

Leticia Maria Henriques Resende

MICROBIOLOGIA E HISTOLOGIA DA MUCOSA GÁSTRICA  
DE PACIENTES Helicobacter pylori POSITIVOS  
COM ÚLCERA PÉPTICA DUODENAL ANTES E APÓS  
TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS

Belo Horizonte  
Minas Gerais - Brasil  
1992

Leticia Maria Henriques Resende

**MICROBIOLOGIA E HISTOLOGIA DA MUCOSA GÁSTRICA  
DE PACIENTES Helicobacter pylori POSITIVOS  
COM ÚLCERA PÉPTICA DUODENAL ANTES E APÓS  
TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS**

Orientadora: Prof. Dulciene Maria de Magalhães Queiroz

Dissertação apresentada ao Colegiado  
do Curso de Mestrado em Microbiologia  
do Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Minas Gerais,  
como requisito parcial para a obtenção  
do grau de Mestre

Belo Horizonte

Minas Gerais - Brasil

1992

Ao meu marido Luiz Fernando,  
meu filho Vinícius e  
meus pais pela compreensão e  
carinho

## AGRADECIMENTOS

Expresso meus agradecimentos a todas as pessoas que colaboraram na realização deste trabalho. De um modo especial, agradeço:

- . À Prof<sup>ã</sup>. Dulciene Maria de Magalhães Queiroz
- . Ao Prof. Edilberto Nogueira Mendes
- . Ao Prof. Gifone Aguiar Rocha
- . Ao Prof. Alfredo José Afonso Barbosa
- . À Prof<sup>ã</sup>. Ana Margarida Miguel Ferreira Nogueira
- . Ao Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho
- . Ao Prof. Luiz de Paula Castro
- . Ao Prof. Celso Affonso de Oliveira
- . Ao Prof. Eduardo Osório Cisalpino
- . Ao Prof. Ênio Cardillo
- . À Prof<sup>ã</sup>. Maria Auxiliadora Roque Carvalho
- . Ao Prof. Ivan Barbosa Machado Sampaio
- . À Dr<sup>ã</sup>. Maria do Carmo Friche Passos
- . Ao Dr. Geraldo Ferreira Lima Júnior

- . Ao Pitágoras Pereira da Silva Júnior
- . Aos bolsistas de iniciação científica Juliana de Andrade Amaral Brasil e Vanessa Gomes Rogana
- . À Maria Regina de Oliveira Sales
- . À Shirley Fraguas Mesquita
- . À Marina do Amaral
- . À Silvia Beleza de Moura
- . À Manoela Enéas Sofonoff
- . Aos professores e colegas do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia
- . Aos funcionários do Serviço de Endoscopia Digestiva do Prof. Celso Affonso de Oliveira
- . À Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES)
- . Aos pacientes, motivo deste trabalho

"O homem é feito ou desfeito por si mesmo. Ao fazer a escolha certa ele ascende como criatura dotada de força, inteligência e amor e como senhor de seus próprios pensamentos, ele tem a chave de todas as situações..."

James Allen

## SUMÁRIO

	PÁGINA
1 - INTRODUÇÃO .....	01
1.1 - HISTÓRICO .....	02
1.2 - MICROBIOLOGIA DO H. Pylori .....	04
1.2.1 - Características Gerais .....	04
1.2.2 - Habitat .....	06
1.2.3 - Métodos para diagnóstico da infecção pelo H. pylori .....	07
1.2.3.1 - Métodos microbiológicos .....	08
1.2.3.2 - Métodos histopatológicos .....	11
1.2.3.3 - Métodos sorológicos .....	12
1.2.3.4 - Teste respiratório com uréia marcada .....	14
1.2.3.5 - Outros métodos de identificação do H. pylori	15
1.3 - AFECÇÕES GASTRODUODENAIAS ASSOCIADAS AO H. Pylori	15
1.3.1 - H. pylori e gastrite .....	16

1.3.2 - H. pylori e úlcera péptica duodenal .....	21
1.4 - TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO H. pylori COM ANTIMICROBIANOS .....	28
1.5 - HISTOLOGIA DA MUCOSA GÁSTRICA APÓS ERRADICAÇÃO DO H. pylori .....	31
1.6 - OBJETIVOS .....	33
2 - PACIENTES E MÉTODOS .....	35
2.1 - PACIENTES .....	36
2.2 - COLHEITA DE MATERIAL .....	38
2.3 - EXAMES MICROBIOLÓGICOS PARA A DETECÇÃO DO H. pylori .....	39
2.3.1 - Cultura .....	39
2.3.2 - Teste da urease pré-formada .....	40
2.3.3 - Exame direto .....	41
2.4 - HISTOLOGIA .....	41
2.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	42

3 - RESULTADOS .....	44
3.1 - EXAMES MICROBIOLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO DO H. pylori .....	45
3.1.1 - Antes do tratamento .....	45
3.1.2 - Após o tratamento .....	45
3.2 - EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE A ERRADICAÇÃO DO H. pylori .....	47
3.2.1 - Tratamento com antimicrobianos .....	47
3.2.2 - Tratamento com cimetidina .....	48
3.3 - ÍNDICES DE CICATRIZAÇÃO DA ÚLCERA DUODENAL APÓS TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA ....	49
3.4 - HISTOLOGIA DA MUCOSA ANTRAL E OXÍNTICA ANTES DO TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA ....	50
3.5 - HISTOLOGIA DA MUCOSA ANTRAL E OXÍNTICA APÓS O TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA ....	52
4 - DISCUSSÃO .....	55

4.1 - EXAMES MICROBIOLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO DO H.	
pylori .....	56
4.2 - EFEITO DO TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E	
CIMETIDINA SOBRE A ERRADICAÇÃO DO H. pylori ....	56
4.3 - ÍNDICES DE CICATRIZAÇÃO DA ÚLCERA DUODENAL APÓS	
O TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA ..	59
4.4 - HISTOLOGIA DA MUCOSA ANTRAL E OXÍNTICA ANTES E	
APÓS O TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E	
CIMETIDINA .....	60
5 - CONCLUSÕES .....	65
6 - RESUMO .....	67
7 - SUMMARY .....	70
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

	PÁGINA
TABELA 1 - Frequência de isolamento do <i>H. pylori</i> do antro gástrico de pacientes com úlcera péptica .....	23
TABELA 2 - Comparação entre os testes da urease pré-formada e exame de esfregaços corados pela carbolfucsina com a cultura de fragmentos de biopsia da mucosa antral após tratamento com antimicrobianos .....	46
TABELA 3 - Efeito do tratamento com antimicrobianos sobre a erradicação do <i>H. pylori</i> .....	47
TABELA 4 - Comparação entre as taxas de erradicação do <i>H. pylori</i> de pacientes do sexo feminino e masculino .....	48
TABELA 5 - Comparação entre a taxa de erradicação do <i>H. pylori</i> de pacientes tratados com antimicrobianos e cimetidina .....	49

TABELA 6 - Histologia da mucosa antral de 41 pacientes H. pylori-positivos com úlcera duodenal ...	50
FIGURA 1 - Aspecto histopatológico da mucosa do antro e corpo gástrico antes do tratamento .....	51
TABELA 7 - Estudo microbiológico e histológico da mucosa antral de pacientes com úlcera duodenal antes e após o tratamento com esquema tríplice de antimicrobianos .....	53
FIGURA 2 - Aspecto histológico da mucosa do antro gástrico antes e após o tratamento com antimicrobianos .....	54

## **INTRODUÇÃO**

## 1.1 - HISTÓRICO

Os primeiros trabalhos relatando a presença de bactérias espiraladas no estômago datam do final do século passado.

SALOMON, em 1896, observou microrganismos espiralados na mucosa gástrica de cães, gatos e ratos, e bactérias semelhantes foram vistas por KRIENITZ, em 1906, no estômago de um paciente com carcinoma gástrico.

DOENGES, em 1938, estudando 242 fragmentos de estômago obtidos em necrópsias, relatou o encontro de diferentes tipos de espiralados em 43% deles.

FREEDBERG & BARRON, em 1940, ao examinarem 35 estômagos de pacientes com câncer gástrico observaram a presença de "espiroquetas" em 37% dos casos.

Contudo, um estudo realizado por PALMER, em 1954, quando foram examinados 1.180 fragmentos de biopsia gástrica obtidos por sucção e corados pela hematoxilina-eosina, desestimulou trabalhos posteriores. Como o autor não observou a presença de espiralados, concluiu que estes microrganismos não estariam associados às doenças gastroduodenais.

Com o advento do gastroscópio de fibra ótica, equipado com dispositivo para obtenção de biopsia sob visão direta, iniciou-se uma nova era no estudo das doenças gastroduodenais.

Em 1975, STEER & COLIN-JONES relataram a presença de bactérias espiraladas na superfície da mucosa gástrica em 81% dentre 47 pacientes com úlcera gástrica. Os autores forneceram evidências convincentes de que estas bactérias não eram contaminantes introduzidas durante a endoscopia e que havia leucócitos polimorfonucleares que migravam através da mucosa gástrica para a luz do estômago, provavelmente em resposta à presença da bactéria.

Finalmente, em 1982, na Austrália, WARREN descreveu a presença de numerosas bactérias espiraladas ou em forma de "S", no epitélio antral de pacientes com gastrite crônica e MARSHALL, paralelamente, conseguiu o cultivo destes microrganismos usando técnicas para o isolamento de bactérias do gênero *Campylobacter*.

A princípio, a bactéria recebeu o nome de *Campylobacter pyloridis* com base nas propriedades que apresentava em comum com outras cepas do gênero *Campylobacter* tais como sensibilidade a antimicrobianos, morfologia e propriedades bioquímicas como a produção de catalase e oxidase (MARSHALL, 1983).

Posteriormente foi feita uma correção gramatical e a bactéria passou a ser denominada *Campylobacter pylori* (MARSHALL & GOODWIN, 1987a).

Estudos de sequências parciais de RNA ribossômico mostraram, entretanto, que o microrganismo não pertencia ao gênero *Campylobacter* (ROMANIUK et al, 1987), tendo sido proposto, recentemente, por GOODWIN et al, (1989) a criação

de um novo gênero (*Helicobacter*) e a mudança da nomenclatura do microrganismo para *Helicobacter pylori*.

## 1.2 - MICROBIOLOGIA DO *H. pylori*

### 1.2.1 - Características gerais

O *H. pylori* é uma bactéria Gram negativa, curva ou em forma de "S", medindo aproximadamente 3,0  $\mu\text{m}$  de comprimento por 0,5  $\mu\text{m}$  de largura, móvel, não esporulada e microaerófila (MARSHALL, 1983; LANGENBERG et al, 1984). Possui uma superfície lisa e quatro a seis flagelos unipolares embainhados e com bulbos terminais nas extremidades distais (MARSHALL, 1983; GOODWIN et al, 1985b). Não reduz o nitrato a nitrito, não fermenta a glicose e não hidrolisa o hipurato de sódio. É oxidase positivo, resistente ao ácido nalidíxico e tolera o selenito de sódio a 1% (MARSHALL, 1983; TAYLOR et al, 1987).

O microrganismo apresenta algumas enzimas pré-formadas tais como esterases, aminopeptidases, fosfatase alcalina, desoxiribonuclease (McNULTY & DENT, 1987) e uma potente urease. A essa intensa atividade ureásica tem sido atribuída a resistência do *H. pylori* ao ambiente ácido do estômago, pois a amônia produzida pela quebra da uréia envolve a bactéria, protegendo-a dos efeitos deletérios do pH ácido (MARSHALL et al, 1987b; LEE & HAZELL, 1988). A

pesquisa da urease pré-formada em fragmentos de biópsia gástrica é usada para diagnóstico da presença do *H. pylori* (McNULTY & WISE, 1985a; HAZELL et al, 1987).

O *H. pylori* é uma bactéria exigente e necessita, para o seu crescimento e isolamento, meios de cultura enriquecidos, contendo sangue e drogas antimicrobianas para inibir o crescimento de microrganismos contaminantes (MARSHALL, 1983; LANGENBERG et al, 1984; GOODWIN et al, 1985a; QUEIROZ et al, 1987). As vias metabólicas específicas através das quais o *H. pylori* obtém e utiliza o carbono não são bem conhecidas, apesar de a bactéria, provavelmente, utilizar aminoácidos intermediários do ciclo dos ácidos tricarbóxicos e lípidos (BUCK & SMITH, 1987). As colônias do *H. pylori* em meio sólido, após três a sete dias de incubação em ambiente de microaerofilia, à temperatura de 37°C e pH entre seis e oito, medem de 0,5 a 1,0 mm de diâmetro, são convexas e translúcidas (MARSHALL, 1983).

"In vitro", a bactéria apresenta-se susceptível a um grande número de antimicrobianos incluindo penicilina G, eritromicina, tetraciclina, tinidazol, metronidazol, gentamicina, cefalosporinas de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> gerações, kanamicina, rifampicina, ampicilina, amoxicilina, furazolidona e bismuto (McNULTY et al, 1985b; GOODWIN et al, 1986a; LAMBERT et al, 1986; ANDREASEN et al, 1987). Por outro lado, o *H. pylori* tem-se mostrado resistente a drogas antiulcerosas como ranitidina (GOODWIN et al, 1986a), sucralfato e cimetidina (ANDREASEN et al, 1987) e a

antimicrobianos como o ácido nalidíxico, à associação sulfametoxazol trimetoprim e à vancomicina (GOODWIN et al, 1986a; LAMBERT et al, 1986).

### 1.2.2 - Habitat

O *H. pylori* coloniza apenas mucosa do tipo gástrico não sendo detectado em áreas de metaplasia intestinal (MARSHALL, 1983; PHILLIPS et al, 1984; LAMBERT et al, 1985; PRICE et al, 1985; BLASER, 1987; COELHO et al, 1987; PETROSS et al, 1988). No estômago pode ser isolado tanto da mucosa oxíntica quanto da antral (QUEIROZ et al, 1988), porém é no antro que se observa maior densidade bacteriana (GOODWIN et al, 1986b; TAYLOR et al, 1987; QUEIROZ et al, 1988).

O microrganismo se distribui focal, segmentar ou difusamente na superfície da mucosa gástrica (MARSHALL, 1983), localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio da superfície e das foveólas (GOODWIN et al, 1986b; HAZELL et al, 1986).

À microscopia eletrônica, as bactérias são vistas em íntimo contato com a membrana luminal da célula epitelial gástrica, concentrando-se, especialmente, nas proximidades ou nas junções intercelulares (HAZELL et al, 1986). Na mucosa gástrica colonizada pelo microrganismo podem ser encontrados fagolisossomas nas células secretoras de muco,

alterações degenerativas nas células parietais, perda de microvilos, diminuição da mucina intracelular e rompimento das junções intercelulares (CHEN et al, 1986). A presença de "pedestais de aderência" entre o *H. pylori* e a superfície da célula epitelial tem sido descrita por alguns autores (CHEN et al, 1986; GOODWIN et al, 1986b; HAZELL et al, 1986; HESSEY et al, 1990). Estes pedestais de aderência são semelhantes aos formados pela *Escherichia coli* enteropatogênica nas células intestinais e podem ter um importante papel na patogenicidade da bactéria (CLAUSEN & CHRISTIE, 1982).

O *H. pylori* é adaptado especificamente ao estômago humano. Em biopsias de duodeno o microrganismo é encontrado apenas em áreas de metaplasia gástrica (PHILLIPS et al, 1984; MARSHALL et al, 1985a; JOHNSTON et al, 1986; WYATT et al, 1987; COELHO et al, 1989). É possível que a afinidade da bactéria pelas células mucíparas gástricas se deva à composição do muco gástrico, que é do tipo neutro, diferente daquele produzido pelas células caliciformes nas áreas de metaplasia intestinal que é constituído de mucopolissacárides ácidos (LEE & HAZZELL, 1988).

### 1.2.3 - Métodos para diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*

A presença do *H. pylori* pode ser detectada através de métodos microbiológicos, histopatológicos e

imunocitoquímicos, utilizando-se fragmentos de biópsia gástrica. Outros métodos considerados não invasivos como testes sorológicos e teste respiratório com uréia marcada, também, podem ser empregados no diagnóstico da infecção causada pelo *H. pylori*.

#### 1.2.3.1 - Métodos microbiológicos

##### . Cultura

A cultura, empregando-se fragmentos de biópsia gástrica, fornece um diagnóstico definitivo da infecção pelo *H. pylori*. O isolamento primário da bactéria, entretanto, é um procedimento difícil. Os fragmentos de biópsia devem ser prontamente inoculados ou mantidos em caldo tioglicolato ou em outro meio de transporte, a 4°C, no máximo por cinco horas antes de serem semeados em meio de cultura apropriado (MARSHALL, 1983; PRICE et al, 1985; DELTENRE et al, 1989).

Após três a sete dias de incubação em ambiente de microaerofilia a 37°C, o microrganismo apresenta colônias de um a dois milímetros de diâmetro, convexas, translúcidas, acinzentadas que devem ser posteriormente identificadas pela coloração de Gram, testes da oxidase, catalase e urease pré-formada (DELTENRE et al, 1989).

A escolha do meio de cultura é uma etapa importante no isolamento do *H. pylori*. Deve-se usar uma base rica em nutrientes como ágar infusão de cérebro e coração ou

ágar Brucella. A inclusão de antimicrobianos (vancomicina, anfotericina B, trimetoprim, neomicina ou ácido nalidíxico) impede o crescimento de contaminantes (McNULTY, 1986a; DELTENRE et al, 1989).

Vários fatores têm sido apontados como responsáveis por culturas negativas como a ingestão de anestésicos tópicos, o uso recente de antibióticos, a contaminação da pinça de biopsia com glutaraldeído ou outros microrganismos, a distribuição irregular do *H. pylori* na mucosa gástrica e a obtenção de fragmentos de biopsia em área de mucosa cujo epitélio não é do tipo gástrico (MARSHALL, 1983; GOODWIN et al, 1985a; PRICE et al, 1985).

Em 1987, QUEIROZ et al, desenvolveram um meio de cultura denominado BHM (Belo Horizonte medium) no qual as colônias de *H. pylori* apresentam coloração dourada, o que facilita o seu reconhecimento mesmo quando em pequeno número e misturadas com colônias contaminantes. O *H. pylori* ao reduzir os sais de tetrazólio, presentes no meio, a complexos insolúveis de formazan adquire a coloração dourada.

#### . Teste da urease

O *H. pylori* apresenta intensa atividade ureásica (MARSHALL, 1983; OWEN et al, 1985; LEE & HAZZELL, 1988). LANGENBERG et al, (1984) foram os primeiros a reconhecer que esta característica poderia ser empregada para o diagnóstico

rápido da presença do microrganismo. Um fragmento de biópsia de mucosa gástrica colonizada pelo *H. pylori*, ao ser introduzido em um meio contendo uréia como substrato e vermelho de fenol como indicador de pH, como contém quantidade apreciável de urease, promove a degradação de uréia em amônia, que aumenta o pH do meio, levando-o à mudança de cor, de amarelo para rosa. Quando a mudança de cor ocorre em até 24 horas o teste é considerado positivo, ou seja, a presença de urease é interpretada como presença de bactéria (McNULTY & WISE, 1985a; HAZZELL et al, 1987).

McNULTY et al, (1989) estudando 1.445 pacientes submetidos à gastroduodenoscopia compararam os resultados do teste de urease com os resultados da cultura e da histologia para o diagnóstico da presença do *H. pylori*. Metade dos testes da urease foi positivo após 30 minutos e 74% dentro de duas horas. A sensibilidade e a especificidade foram respectivamente 96% e 100% quando comparados com a cultura. A velocidade e a intensidade da mudança de cor foram proporcionais ao número de microrganismos presentes na mucosa gástrica.

A principal limitação do teste da urease é o número de microrganismos presentes no fragmento de biópsia. DELTENRE et al, (1989) demonstraram que abaixo de 10.000 unidades formadoras de colônias/ml a cultura pode ser positiva e o teste da urease negativo e que não existe uma relação direta entre a atividade da urease e a viabilidade do *H. pylori*.

### 1.2.3.2 - Métodos histopatológicos

Vários métodos podem ser empregados para a demonstração histológica do microrganismo espiralado na mucosa gástrica. Para a realização destas técnicas são utilizados fragmentos de biopsia gástrica fixados em formol e incluídos em parafina. Cortes de cinco  $\mu\text{m}$  podem ser corados pela hematoxilina-eosina (JONES et al, 1984; JOHNSTON et al, 1986; TAYLOR et al, 1987; MADAN et al, 1988), pelo Gram (TROWELL et al, 1987; MONTGOMERY et al, 1988), pelo Giemsa modificado ou não (GRAY & WYATT, 1986; MADAN et al, 1988), pela prata de acordo com Wartin-Starry (MARSHALL, 1983; LAMBERT et al, 1985; PRICE et al, 1985; MADAN et al, 1988), pelo método de Gimenez (Mc MULLEN et al, 1986; COELHO et al, 1987) e pela carbolfucsina (ROCHA et al, 1989).

O *H. pylori* é fracamente visível nos cortes corados pela hematoxilina-eosina, coloração usada na rotina histopatológica, o que dificultou durante décadas o seu reconhecimento nas biopsias gástricas (PALMER, 1954). A técnica de impregnação pela prata de Wartin-Starry é uma das mais difundidas, porém é de difícil execução e de alto custo (MADAN et al, 1988). As colorações de Giemsa e da carbolfucsina apresentam-se como boas alternativas para a identificação histológica do *H. pylori*, pois além de sensíveis, são de fácil execução e de baixo custo (GRAY & WYATT, 1986; DELTENRE et al, 1989; ROCHA et al, 1989).

Outras técnicas tais como "acridine orange" (WALTERS et al, 1986) e contraste de fase (PINKARD et al, 1986), embora recomendadas, requerem equipamentos especiais.

A pesquisa de *H. pylori* através de métodos histológicos é positiva em 80 a 95% dos pacientes que apresentam cultura positiva, o que indica uma boa sensibilidade dos métodos (CHODOS et al, 1988; DELTENRE et al, 1989; SCHELL & SCHUBERT, 1989). Alguns deles permitem, além da identificação do *H. pylori*, o estudo das alterações histológicas da mucosa gástrica.

#### 1.2.3.3 - Métodos sorológicos

As primeiras investigações sorológicas já indicavam que os pacientes infectados com *H. pylori* produzem anticorpos específicos contra a bactéria (JONES et al, 1984). Estes achados reforçaram a hipótese do papel patogênico do microrganismo e levantaram a possibilidade de utilização de um método não invasivo para o diagnóstico da infecção causada pelo *H. pylori*.

Títulos elevados de IgG e IgA podem ser detectados no soro de pacientes infectados (BOOTH et al, 1986; JONES et al, 1986; RATHBONE et al, 1986; GOODWIN et al, 1987). Entretanto, raramente são observados títulos altos de IgM, provavelmente por se tratar de uma doença de evolução crônica (RATHBONE et al, 1986).

Os títulos de anticorpos séricos podem diminuir após tratamento, mas geralmente permanecem elevados durante anos (VAIRA et al, 1988).

Os métodos sorológicos, por dispensarem a endoscopia, estão sendo empregados, não apenas para diagnóstico, mas principalmente para estudos epidemiológicos (MARSHALL et al, 1984; JONES et al, 1986; PEREZ-PEREZ et al, 1988) e espera-se que, no futuro, possam ser úteis no controle de tratamento, após a erradicação do *H. pylori*.

Várias técnicas como hemaglutinação passiva (MARSHALL et al, 1984), aglutinação bacteriana (JONES et al, 1984), fixação de complemento (JONES et al, 1986), ELISA (BOOTH et al, 1986; RATHBONE et al, 1986; GOODWIN et al, 1987) e "immunoblot" (VON WULFFEN et al, 1986) têm sido empregadas. Essas duas últimas demonstraram ser superiores às demais; porém, a técnica de ELISA tem sido a mais utilizada rotineiramente pelos laboratórios devido a sua alta sensibilidade e a facilidade na sua execução. Em estudos que correlacionam resultados de testes sorológicos com a cultura e testes histológicos, a sensibilidade dos testes sorológicos varia de 80 a 100% e a especificidade de 75 a 100% (RATHBONE et al, 1986; GOODWIN et al, 1987; DENT et al, 1988; PEREZ-PEREZ et al, 1988). A variação da sensibilidade e da especificidade nestes estudos tem sido atribuída às diferentes preparações dos antígenos empregadas. Muitos utilizam, como antígenos para o teste de ELISA, células bacterianas inteiras (JONES et al, 1986;

RATHBONE et al, 1986). Outros empregam sonicados de cultura, brutos (BOOTH et al, 1986; PEREZ-PEREZ et al, 1988) ou purificados (GOODWIN et al, 1987; EVANS et al, 1989).

No Brasil, ROCHA et al, (1990) desenvolveram uma técnica de imunofluorescência indireta para a detecção de anticorpos anti-*H. pylori* que apresenta 96,4% de sensibilidade e 100% de especificidade. Esta última é explicada pelo fato de que a técnica não detecta antígenos flagelares, considerados os responsáveis pelas reações cruzadas observadas nos testes de ELISA quando são empregados células inteiras ou sonicados brutos como antígenos (PEREZ-PEREZ & BLASER, 1987; NEWELL & RATHBONE, 1989).

#### 1.2.3.4 - Teste respiratório com uréia marcada

Assim como o teste da urease rápida, o teste respiratório é baseado na potente atividade ureásica do *H. pylori*. Ao se administrar a um paciente *H. pylori* positivo, por via oral, uréia marcada com  $C^{13}$  (isótopo não radioativo) ou  $C^{14}$  (isótopo radioativo) ocorre eliminação de  $CO_2$  marcado, na respiração, resultante do desdobramento da uréia ingerida em amônia e  $CO_2$ , sob a ação da urease bacteriana. A concentração de  $CO_2$  marcado é determinada através de um espectrômetro de massa ( $C^{13}$ ) ou de um espectrômetro de cintilação líquida ( $C^{14}$ ) e os resultados são comparados com aqueles de indivíduos sabidamente *H. pylori* positivos e

negativos (GRAHAM et al, 1987; MARSHALL et al, 1988b).

A sensibilidade e a especificidade do teste, quando comparado com métodos histológicos e a cultura, varia de 90 a 100% e 88 a 95% respectivamente (GRAHAM et al, 1987; MARSHALL et al, 1988b; ZANTEN et al, 1990). O método tem sido empregado não apenas para diagnóstico como também para acompanhamento de tratamento específico (GRAHAM et al, 1987; ZANTEN et al, 1990)

#### 1.2.3.5 - Outros métodos de identificação de H. pylori

Sequências específicas de DNA usadas como sondas em reações de hibridização (WETHERALL et al, 1988), ou como pares de oligonucleotídeos sintéticos em reações de polimerização em cadeia (PCR) (MOROTOMI et al, 1989) têm sido empregadas para a identificação de linhagens de H. pylori em estudos epidemiológicos e microbiológicos, bem como para simples diagnóstico.

#### 1.3 - AFECÇÕES GASTRODUODENAIAS ASSOCIADAS AO H. pylori

Vários trabalhos demonstram a alta associação entre a presença do H. pylori, gastrite crônica, úlcera duodenal e úlcera gástrica (MARSHALL, 1983; LANGENBERG et al, 1984; PHILLIPS et al, 1984; PRICE et al, 1985; BLASER, 1987; COELHO et al, 1987; PETROSS et al, 1988; QUEIROZ et

al, 1988).

### 1.3.1 - *H. pylori* e gastrite

O termo "gastrite" refere-se a uma inflamação da mucosa do estômago que foi inicialmente classificada em aguda e crônica com base em achados puramente histológicos (WHITEHEAD et al, 1972). Em 1973, STRIKLAND & MACKAY, levando em consideração também dados funcionais e imunológicos, subdividiram a gastrite em dois grandes grupos: gastrite do tipo A e gastrite do tipo B.

A gastrite do tipo A acomete difusamente o estômago, levando a um quadro final de atrofia gástrica com hipo ou acloridria e anemia perniciosa. Está associada à presença de anticorpos anticélulas parietais, sendo considerada uma doença auto-imune. Raramente é associada à presença de *H. pylori* (O'CONNOR et al, 1984; BLASER, 1987).

Já a gastrite do tipo B, também denominada gastrite crônica do antro, acomete principalmente as células epiteliais secretoras de muco e por isto atinge principalmente a mucosa da região antropilórica, podendo afetar também o corpo e tardiamente o fundo gástrico. Não está associada à presença de auto-anticorpos e é considerada a forma mais frequente de gastrite (KEKKI et al, 1987). A presença do *H. pylori* está relacionada principalmente a este tipo de gastrite (MARSHALL, 1983; LANGENBERG et al, 1984; PHILLIPS et al, 1984; GILMAN et al, 1986; COELHO et al,

1987; PETROSS et al, 1988; RAWES et al, 1988).

Uma nova classificação de gastrite foi proposta por ocasião do IX Congresso Mundial de Gastroenterologia, que realizou-se em Sidney em 1990. O sistema de Sydney de classificação de gastrites é dividido em duas partes: divisão histológica e divisão endoscópica. A divisão histológica inclui dados topográficos (localização da gastrite), dados morfológicos graduáveis (presença - em cruzes - de atividade inflamatória, de atrofia, de metaplasia intestinal e densidade do *H. pylori*); morfológicos específicos não graduáveis (presença de granulomas, de *Gastrospirillum hominis*, de citomegalovírus, de eosinófilos e de alterações produzidas por radiação) e morfológicos inespecíficos não graduáveis (perda de mucina, presença de edema, de degeneração epitelial, de erosões, de fibrose, de vascularização, de hiperplasia foveolar). A divisão endoscópica considera dados topográficos (localização da gastrite) e aspectos macroscópicos (presença de edema, de eritema, de exsudato, de erosões, de nódulos).

Nos pacientes infectados pelo *H. pylori* a mucosa gástrica apresenta-se, à histologia, com inflamação crônica caracterizada pela presença de numerosas células mononucleares associadas a infiltrado de neutrófilos polimorfonucleares na lâmina própria que às vezes permeia os espaços entre as células epiteliais glandulares e de revestimento. A presença deste infiltrado é denominada atividade inflamatória (MARSHALL, 1983; STEER, 1984).

Alterações do epitélio superficial podem estar presentes em graus variados. Nas formas mais graves pode ocorrer formação de microabscessos nas criptas glandulares. Microerosões e até mesmo atrofia progressiva da área glandular também podem estar presentes. As alterações histológicas são observadas mais frequentemente na região antral que no corpo e fundo gástrico (STEER, 1984; PETROSS et al, 1988).

O microrganismo, embora presente na mucosa do fundo e corpo gástrico, pode estar ou não associado a alterações histológicas nestas regiões; entretanto, nestes casos há sempre gastrite crônica no antro gástrico (FIOCCA et al, 1987; HAZELL et al, 1987; QUEIROZ et al, 1988).

Dentre as várias evidências que reforçam a relação causal entre *H. pylori* e gastrite crônica do antro pode-se citar:

a - Vários trabalhos demonstram elevada associação entre a presença do microrganismo e gastrite crônica do tipo B (MARSHALL, 1983; LANGENBERG et al, 1984; LAMBERT et al, 1985; PRICE et al, 1985; JOHNSTON et al, 1986; JONES et al, 1986; RAWNS et al, 1988; COELHO et al, 1987; PETROSS et al, 1988). Por outro lado, a bactéria geralmente está ausente na mucosa gástrica normal (LANGENBERG et al, 1984; BARTHEL et al, 1988), na gastrite crônica do tipo A (O'CONNOR et al, 1984), na gastrite medicamentosa (GUSTAVSSON et al, 1987); na gastrite de refluxo (O'CONNOR et al, 1986), na gastrite ligada à doença de Crohn, doença de Menétrier, síndrome

eosinofílica e disgamaglobulinemia (ORMAND et al, 1989).

b - Pacientes com infecção pelo microrganismo apresentam títulos elevados de anticorpos específicos no sangue e no suco gástrico (BOOTH et al, 1986; JONES et al, 1986; MORRIS et al, 1986; RATHBONE et al, 1986; EVANS et al, 1989; MEGRAUD et al, 1989). Técnicas imunocitoquímicas demonstraram a presença de anticorpos anti-H. pylori recobrando as bactérias, no interior da mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica em atividade (WYATT et al, 1988). Tem sido também relatado um aumento de linfócitos T, tanto CD4<sup>+</sup> quanto CD8<sup>+</sup> e de células apresentadoras de antígeno, em áreas de gastrite associada ao H. pylori (ENGSTRAND et al, 1989). Estas evidências indicam que a mucosa gástrica é imunocompetente e que esta resposta local, apesar de ineficiente na eliminação do microrganismo, faz parte da gastrite histológica ligada ao H. pylori.

c - Dois voluntários humanos, que não apresentavam alterações histológicas da mucosa gástrica desenvolveram um quadro clínico e histopatológico de gastrite do antro, com presença de bactérias espiraladas, diminuição do muco, infiltração de polimorfonucleares na mucosa e edema da lâmina própria após a ingestão de amostras de H. pylori (MARSHALL et al, 1985b; MORRIS & NICHOLSON, 1987). Em um dos estudos foi observado o aparecimento de anticorpos IgG específicos (MORRIS & NICHOLSON, 1987).

d - FROMMER et al, (1988) descreveram um caso de gastrite aguda causada pelo H. pylori. O paciente foi acompanhado por um período de 2 anos. Na fase inicial o paciente apresentou alterações histológicas compatíveis com o diagnóstico de gastrite aguda que evoluiu para gastrite crônica em atividade. Foi observado também aumento significativo dos níveis de anticorpos IgG anti-H. pylori.

e - Surtos de gastrite aguda associada à hipocloridria e sintomas dispépticos, envolvendo voluntários submetidos a estudos de secreção gástrica em que o equipamento não era esterilizado, foram relatados anteriormente à descrição do H. pylori (WIERSINGA & TYTGAT, 1977; RAMSEY et al, 1979; GLEDHILL et al, 1985). Análise histológica posterior das biopsias gástricas destes pacientes revelou a presença de microrganismos espiralados morfologicamente semelhantes ao H. pylori (MARSHALL et al, 1985a). Estudos sorológicos demonstraram também o aparecimento de títulos elevados de anticorpos anti-H. pylori (PETERSON et al, 1987).

f - Leitões gnotobióticos ao serem infectados por via oral com amostras de H. pylori isoladas de seres humanos ficam colonizados e o microrganismo limita-se à mucosa do estômago, causando gastrite e resposta imunológica específica (KRAKOWKA et al, 1987; LAMBERT et al, 1987).

g - Tem sido sistematicamente demonstrado que a administração de antimicrobianos que erradicam o

microrganismo resulta em resolução da gastrite (RAMIREZ-RAMOS et al, 1987; GLUPCZYNSKY et al, 1988; MORGAN et al, 1988). A recrudescência ou recorrência da infecção pelo *H. pylori* é sempre acompanhada de reaparecimento da gastrite (McNULTY et al, 1986b; RAMIREZ-RAMOS et al, 1987; GLUPCZYNSKY et al, 1988).

### 1.3.2 - *H. pylori* e úlcera péptica duodenal

A úlcera péptica duodenal é uma doença de evolução crônica, com surtos de ativação e períodos de acalmia. É extremamente frequente no nosso meio e incide principalmente na faixa etária produtiva (35 a 50 anos) e no sexo masculino (BARON, 1982).

Vários fatores têm sido considerados importantes na patogênese da úlcera péptica (BARON, 1982) e incluem: dieta, predisposição genética, fumo, uso de drogas anti-inflamatórias, fatores emocionais e alterações da fisiologia gástrica como aumento da massa de células parietais, aumento da secreção ácida pós-prandial, aumento da liberação de gastrina pós-prandial, aumento da sensibilidade aos secretagogos, aumento da velocidade de esvaziamento gástrico e diminuição da inibição da secreção ácida e de gastrina. Entretanto, nenhum destes fatores pode ser considerado como único na patogenia da úlcera péptica.

Uma característica comum a todos os ulcerosos duodenais é a presença de gastrite crônica do antro (Mac KAY

& HISLOP, 1966; SCHAGER et al, 1967; GEAR et al, 1971; TATSUTA et al, 1986; SIPPONEN et al, 1989), que permanece mesmo com a cicatrização da úlcera após terapêutica empregando antagonistas dos receptores  $H_2$  (GEAR et al, 1971). SIPPONEN et al, 1989 relataram um risco dez vezes maior de aparecimento de úlcera péptica duodenal em pacientes com gastrite do antro, quando comparados com indivíduos de estômago histologicamente normal.

Ainda não está definido como a inflamação da mucosa do antro gástrico relaciona-se com o aparecimento da úlcera duodenal. Algumas alterações da secreção e da motilidade gástrica, que ocorrem quando há gastrite, podem causar danos à mucosa duodenal ou serem responsáveis pela ruptura dos mecanismos naturais de defesa (SIPPONEN et al, 1989).

Como *H. pylori* é considerado atualmente o agente etiológico da gastrite do antro, não é surpreendente ser encontrado em quase 100% dos pacientes com úlcera duodenal. Muitos estudos desenvolvidos nos últimos anos, tanto em adultos quanto em crianças, demonstram a frequente associação entre *H. pylori* e úlcera duodenal (TAB. 1).

TABELA 1

Frequência de isolamento do *H. pylori* do antro gástrico de pacientes com úlcera péptica duodenal.

Autores	Pacientes	Nº	HP+(%)
Marshall & Warren (1983)	adultos	13	100
Langenberg et al (1984)	adultos	9	100
Lambert et al (1985)	adultos	61	95
McNulty et al (1986b)	adultos	20	95
Booth et al (1986)	adultos	25	78
von Wulffen et al (1986)	adultos	54	83
Coelho et al (1987)	adultos	15	100
Fiocca et al (1987)	adultos	30	88
Graham et al (1988)	adultos	85	91
Raws et al (1988)	adultos	165	100
Mendes et al (1990)	adultos	90	100
Drumm et al (1988)	crianças	10	100
Queiroz et al (1991)	crianças	15	100

A hipótese mais aceita para explicar o papel do microrganismo na patogênese da úlcera baseia-se no fato de que os pacientes com úlcera duodenal apresentam áreas de metaplasia gástrica na mucosa duodenal (JAMES, 1964; KREUNING et al, 1978; STEER, 1984). Esta metaplasia é considerada uma resposta da mucosa duodenal à exposição aumentada ao ácido. Estudos em animais (RHODES, 1964) e em seres humanos (PATRICK et al, 1974) confirmam estes dados. Reversão da metaplasia gástrica no duodeno tem sido observada em pacientes com úlcera duodenal, após vagotomia supra seletiva (WYATT et al, 1987). Por outro lado,

MALFERTHEINER et al, (1989) demonstraram persistência de metaplasia gástrica em pacientes com úlcera duodenal tratados com inibidores dos receptores  $H_2$  e sugeriram que outros fatores como alterações da secreção de bicarbonato e da motilidade gástrica, responsáveis pela proteção da mucosa duodenal aos agentes agressivos, também favorecem a formação de metaplasia gástrica no duodeno.

Embora o *H. pylori* não colonize a mucosa duodenal, devido a sua especificidade pelo epitélio gástrico, é capaz de colonizar o duodeno nas áreas de metaplasia gástrica, provocando inflamação local e tornando a mucosa mais susceptível a agentes agressivos tais como o ácido (GOODWIN, 1988). De acordo com WYATT et al, (1987) a presença do *H. pylori* nas áreas de metaplasia gástrica no duodeno também contribuiria para o aumento da extensão da metaplasia, favorecendo ainda mais a infecção pelo microrganismo, com conseqüente aparecimento de duodenite e posterior desenvolvimento de ulceração.

Outros mecanismos, que se somariam ao anterior, têm sido propostos para explicar o envolvimento do *H. pylori* na patogênese da úlcera duodenal, quais sejam:

a - Alterações da motilidade gastroduodenal. PIERAMICO et al, (1989) ao tentarem estabelecer uma relação entre a presença do microrganismo e alterações motoras do trato gastrointestinal observaram uma hipomotilidade antral pós-prandial em pacientes com gastrite crônica do antro causada

pelo *H. pylori*. De acordo com os autores estas alterações podem contribuir para uma maior permanência dos alimentos no estômago e aumento da secreção ácida, que conseqüentemente levaria a um aumento dos níveis de ácido no duodeno e formação de metaplasia gástrica;

b - Alterações dos mecanismos de regulação da secreção gástrica. É tendência já muito antiga considerar que a ruptura do equilíbrio existente entre os agentes agressivos e os mecanismos protetores da mucosa gastroduodenal resultaria na formação do nicho ulceroso. Alterações da secreção ácida e dos mecanismos de sua regulação poderiam agir como fatores promovedores de úlcera (BARON, 1982). A secreção ácida da célula parietal é regulada por mecanismos de estímulo e inibição. A estimulação é mediada por neurotransmissores (acetilcolina), hormônios (gastrina) e agentes parácrinos (histamina) (SCHUBERT & SHAMBUREK, 1990). A histamina é liberada de mastócitos ou de células "enterochromaffin-like", presentes na mucosa gástrica (SOLL et al, 1981a); a acetilcolina é liberada das terminações nervosas pós-ganglionares intramurais (SOLL et al, 1981b) e a gastrina, produzida por células G localizadas no antro e no duodeno, é liberada na circulação sanguínea (SOLL et al, 1984). Em estudos empregando células parietais isoladas de cães, SOLL (1978) demonstrou a presença de receptores individualizados para histamina, acetilcolina e gastrina e evidências da existência de um sinergismo pós-receptor.

Estudos "in vivo" empregando antagonistas de receptores  $H_2$  que inibem todas as vias de secreção ácida confirmam estes dados (SCHUBERT & SHAMBURECK, 1990). A histamina promove a secreção ácida através do aumento dos níveis de AMP cíclico (SOLL & WOLLIN, 1979), enquanto a acetilcolina e a gastrina estimulam a secreção gástrica através do aumento dos níveis de cálcio intracitoplasmático (SOLL et al, 1981b; SOLL et al, 1984). A acetilcolina e gastrina são também capazes de liberar histamina da mucosa gástrica, provavelmente das células "enterochromaffin-like" (SANDVICK et al, 1987).

A inibição da secreção ácida da célula parietal é regulada principalmente pela somatostatina e prostaglandina E (SCHUBERT & SHAMBURECK, 1990) que se unem a receptores celulares que inibem a atividade da adenilciclase (SOLL, 1978). Tanto as vias de estimulação quanto as de inibição são direcionadas para a modulação da atividade da  $H^+K^+$  ATPase, uma bomba de prótons localizada na superfície celular (SCHUBERT & SHAMBURECK, 1990). Dentre os mediadores químicos envolvidos na secreção gástrica que foram estudados em pacientes *H. pylori* positivos destacam-se a gastrina, a histamina e o pepsinogênio I.

A gastrina é um hormônio produzido pelas células G, localizadas frequentemente no antro gástrico. É considerado um potente estimulador da secreção ácida, além de possuir um efeito trófico, estimulando um aumento da massa de células parietais, principais e "enterochromaffin-like" (JOHNSON, 1976). Pacientes com úlcera duodenal

apresentam níveis aumentados de gastrina sérica, especialmente após estímulo (WALSH et al, 1975). LEVI et al, (1989) propuseram recentemente que o excesso de amônia, produzido através da degradação de uréia pela urease do *H. pylori*, promoveria um aumento do pH na mucosa antral dos pacientes com úlcera duodenal, com conseqüente hipergastrinemia e aumento da secreção ácida. McCOLL et al, (1989) e GRAHAM et al, (1990) confirmaram estes achados ao demonstrarem, em pacientes com úlcera duodenal, uma diminuição dos níveis de gastrina sérica, após a erradicação do *H. pylori*. Achados semelhantes foram observados por ODERDA et al, (1989a) em crianças.

A histamina tem sido considerada como o mediador final de vários secretagogos, inclusive da gastrina (SCHUBERT & SHAMBUREK, 1990). Pacientes com úlcera duodenal apresentam uma diminuição do conteúdo de histamina na mucosa oxíntica gástrica (PEDEN et al, 1982). QUEIROZ et al, (1991) determinaram a concentração de histamina na mucosa oxíntica de adultos e crianças *H. pylori* positivos com e sem úlcera duodenal e compararam com um grupo controle *H. pylori* negativo. Foi observada uma concentração de histamina significativamente menor nos pacientes *H. pylori* positivos. A diminuição da concentração de histamina tecidual (histamina endógena) observada nestes pacientes poderia se dever a um consumo exagerado de histamina, significando indiretamente aumento da secreção ácida.

Os pepsinogênios são as principais pro-enzimas digestivas secretadas pelo estômago que são convertidas pelo ácido em pepsina e são estimuladas pela gastrina (SAMLOFF et al, 1975). Os níveis séricos de pepsinogênio estão aumentados em pacientes com gastrite e doença péptica ulcerosa (SAMLOFF et al, 1987). Crianças com gastrite associada ao *H. pylori* apresentam níveis séricos de pepsinogênio I mais elevados que crianças *H. pylori* negativas (ODERDA et al, 1989a). Também foi relatada uma diminuição dos níveis séricos de pepsinogênio após a erradicação da bactéria (ODERDA et al, 1989b).

#### 1.4 - TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO *H. pylori* COM ANTIMICROBIANOS

Desde o isolamento do *H. pylori* várias tentativas têm sido feitas no sentido de se estabelecer um esquema terapêutico eficaz para a erradicação da bactéria (McNULTY et al, 1986b; RAMIREZ-RAMOS et al, 1987; GLUPCZYNSKI et al, 1988; MORGAN et al, 1988; RAWES et al, 1988).

O *H. pylori* apresenta "in vitro" sensibilidade a compostos de bismuto e a uma grande variedade de antimicrobianos como penicilina, ampicilina, cefalosporina, macrolídeos, quinolonas, aminoglicosídeos, tetraciclina e nitroimidazóis. É resistente, porém, à vancomicina, trimetoprim e sulfonamidas (McNULTY et al, 1985b; GOODWIN et

al, 1986a; LAMBERT et al, 1986; ANDREASEN & ANDERSEN, 1987).

Entretanto, muitos dos antibióticos que atuam "in vitro" sobre o *H. pylori* se mostram totalmente ineficientes "in vivo" ou reduzem apenas temporariamente a colonização da bactéria no estômago (McNULTY et al, 1986b; GLUFCZYNSKI et al, 1988).

Diferentes fatores têm sido sugeridos como responsáveis pela falta de eficácia dos tratamentos: concentração insuficiente da droga na mucosa gástrica e nas criptas das glândulas devido à sua pouca penetração; inativação local da droga; diminuição da atividade antibacteriana em pH ácido; administração inapropriada da droga; e duração e acompanhamento inadequado do tratamento (GLUFCZYNSKI et al, 1989).

Nos primeiros ensaios terapêuticos apenas um antimicrobiano era empregado; tendo sido a amoxicilina a mais extensivamente estudada. Setenta a 80% dos pacientes tornavam-se *H. pylori* negativos imediatamente após o tratamento (GLUFCZYNSKI et al, 1988). Todavia, ao se empregar monoterapia com amoxicilina a taxa de recidiva é muito elevada e a erradicação, a longo prazo, não excede 20% dos casos (RAWS et al, 1988).

Monoterapia com sais de bismuto tem-se mostrado também pouco efetiva na erradicação do *H. pylori* (McNULTY et al, 1986b; MARSHALL et al, 1988a). Entretanto, ensaios terapêuticos com estes compostos, associados a um ou dois antibióticos durante algumas semanas, apresentam melhores

resultados (McNULTY et al, 1986a; ODERDA et al, 1989b). RAWES et al, (1988) utilizando amoxicilina (375 mg t.i.d.) com subcitrato de bismuto coloidal (120 mg q.i.d.) por quatro semanas conseguiram erradicação do *H. pylori* em sete dentre 20 pacientes com gastrite crônica. O'RIORDAN et al, (1989) compararam diferentes esquemas de antimicrobianos em pacientes com úlcera duodenal. A associação de bismuto (120 mg q.i.d.) e amoxicilina (500 mg q.i.d.), de bismuto (120 mg q.i.d.) e metronidazol (200 mg t.i.d.) e de bismuto (120 mg t.i.d.) e metronidazol (400 mg t.i.d.), durante sete dias, erradicou *H. pylori* em 50%, 57% e 85% dos pacientes, respectivamente. MARSHALL et al, (1988a) observaram 70% de cura em pacientes tratados com subcitrato de bismuto coloidal e tinidazol durante dez dias.

Esquemas terapêuticos empregando três drogas apresentam o maior índice de sucesso. BORODY et al, (1989) trataram 100 pacientes *H. pylori* positivos com e sem úlcera duodenal, durante quatro semanas, com subcitrato de bismuto (120 mg q.i.d.), tetraciclina (500 mg q.i.d.) e metronidazol (200 mg q.i.d.). O índice de erradicação foi de 94% após oito semanas do término do tratamento e de 50% após 12 a 25 meses. Resultados semelhantes foram obtidos por BORSCH et al, (1989) usando, em um grupo de 125 pacientes, uma combinação de bismuto (600 mg t.i.d.), amoxicilina (500 mg t.i.d.) e metronidazol (500 mg t.i.d), durante duas semanas. No sétimo dia após o tratamento foi encontrada uma taxa de erradicação de 80%.

COELHO et al, (1990) testaram a eficácia da furazolidona na erradicação do *H. pylori* em pacientes com úlcera péptica. Em um estudo preliminar, oito pacientes *H. pylori*-positivos foram submetidos a esquema de tratamento com furazolidona (100 mg q.i.d.) e metronidazol (250 mg t.i.d.) durante 15 dias e seis pacientes foram tratados com furazolidona (100 mg q.i.d.), amoxicilina (500 mg q.i.d.) e metronidazol (250 mg t.i.d.) durante cinco dias. A eliminação da bactéria ocorreu em 88% quando o esquema triplice foi empregado.

Todos estes ensaios terapêuticos têm demonstrado que a erradicação do *H. pylori* se acompanha da cicatrização da úlcera péptica (MARSHALL, 1988a; O'RIORDAN, 1989; COELHO et al, 1990). Também tem sido verificado que recidivas da úlcera são precedidas de reinfecção pelo *H. pylori* (COGHLAN et al, 1987; BORSCH et al, 1989; MOROTOMI et al, 1989). Estas são evidências, consideradas importantes, que apoiam a teoria de que o *H. pylori* desempenha um papel essencial na etiopatogenia da úlcera duodenal.

#### 1.5 - HISTOLOGIA DA MUCOSA GÁSTRICA APÓS ERRADICAÇÃO DO *H. pylori*.

Alguns estudos demonstram que a erradicação do *H. pylori* resulta em melhora ou mesmo regressão completa do processo inflamatório da mucosa gástrica.

Mc NULTY et al, (1986b) estudaram 50 pacientes com gastrite associada ao *H. pylori*, antes e após tratamento com monoterapia, empregando salicilato de bismuto ou eritromicina ou placebo. Nos três grupos de tratamento a eliminação do microrganismo ocorreu em 14 dos 18 pacientes que receberam salicilato de bismuto, em um dos 15 pacientes do grupo tratado com eritromicina e em nenhum dos 17 pacientes que ingeriram placebo. Houve uma melhora significativa ( $p < 0,0001$ ) do aspecto endoscópico e histológico da mucosa gástrica dos pacientes nos quais a bactéria foi erradicada.

RAWS et al, (1988) obtiveram resultados semelhantes ao de Mc NULTY et al. Os autores após tratarem pacientes *H. pylori* positivos com cimetidina ou sucralfato não observaram erradicação do *H. pylori* e melhora do quadro histológico da mucosa gástrica. Por outro lado, dentre os pacientes que receberam subcitrato de bismuto ou amoxicilina, foi observada negativação na cultura para *H. pylori* e redução da atividade inflamatória da gastrite em 50% e 68% dos pacientes respectivamente. Dentre os pacientes que haviam se tornado *H. pylori* negativos, 60% voltaram a apresentar cultura positiva e gastrite em atividade.

MARSHALL et al, (1988a) também observaram uma melhora da atividade inflamatória e da intensidade da gastrite após a erradicação do *H. pylori* em pacientes com úlcera duodenal submetidos a tratamento com subcitrato de bismuto e tinidazol. Entretanto, diferenças significativas,

quanto a intensidade da gastrite, não foram observadas nos pacientes que persistiram *H. pylori* positivos. Naqueles em que houve reinfecção ou recrudescência as alterações histológicas reapareceram.

BORODY et al, (1989) após tratarem 100 pacientes *H. pylori* positivos, com e sem úlcera duodenal, com um esquema tríplice de antimicrobianos (subcitrato de bismuto, tetraciclina e metronidazol) observaram eliminação da bactéria e redução da atividade inflamatória em 94 (94%) pacientes.

Existem poucos estudos comparando, sob o ponto de vista histológico, as mucosas antral e oxíntica antes e após a erradicação do *H. pylori* com antimicrobianos, especialmente quando um esquema tríplice de tratamento é empregado. Estudos avaliando histologicamente a mucosa gástrica após o tratamento são escassos, principalmente, por que o acompanhamento dos pacientes, atualmente, vem sendo feito através do teste da uréia marcada com C<sup>14</sup> ou C<sup>13</sup>.

## 1.6 - OBJETIVOS

Embora o efeito da erradicação do *H. pylori* após emprego de furazolidona, amoxicilina e metronidazol já tenha sido preliminarmente avaliado por COELHO et al, (1990), os autores estudaram somente seis pacientes e avaliaram apenas a mucosa antral.

Assim sendo, este trabalho foi desenvolvido com os seguintes objetivos:

a - Verificar a eficácia de um esquema tríplice de antimicrobianos (furazolidona, amoxicilina e metronidazol) na erradicação do *H. pylori* e na cicatrização da úlcera péptica duodenal.

b - Estudar, sob o ponto de vista histológico e microbiológico, a mucosa antral e oxíntica de pacientes com úlcera duodenal antes e após o tratamento com antimicrobianos ou com inibidor de receptor  $H_2$  (cimetidina).

PROTÓTIPO E MÉTODOS

## **PACIENTES E MÉTODOS**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Todos os pacientes consentiram em participar do estudo após serem esclarecidos sobre o mesmo.

## 2.1 - PACIENTES

No período de janeiro de 1989 a julho de 1990 foram estudados pacientes que procuraram o Ambulatório de Úlcera Péptica do Serviço de Gastroenterologia, Nutrição e Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da UFMG e que foram posteriormente encaminhados ao Serviço de Gastroduodenoscopia do Prof. Celso Affonso de Oliveira para esclarecimento diagnóstico de sintomas dispépticos. Dentre eles foram selecionados 41 pacientes com diagnóstico endoscópico de úlcera péptica duodenal, levando-se em conta os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

### a) Critérios de inclusão:

- . úlcera duodenal em atividade à endoscopia;

### b) Critérios de exclusão:

- . presença simultânea de úlcera gástrica, estenose pilórica, úlcera pré-pilórica e/ou úlcera pós-bulbar;
- . síndrome de Zollinger-Ellison;
- . distúrbios de coagulação;
- . complicações como perfuração e/ou hemorragia;

- . uso de anticolinérgicos, inibidores de receptor  $H_2$  e antimicrobianos até 72 horas antes do exame;
- . cirurgia gástrica anterior ou condições que possam requerer cirurgia;
- . evidências (ou história recente) de doenças ou disfunções graves (cardíacas, hepáticas ou renais, etc.);
- . evidências de lesão ativa ou residual do sistema nervoso, de fundo orgânico ou funcional;
- . diabetes mellitus;
- . história de doença maligna (câncer), exceto de pele;
- . necessidade de uso de qualquer droga anti-inflamatória, anticoagulante, anticolinérgica, antidepressiva, de salicilatos ou antineoplásicos;
- . hipersensibilidade à cimetidina;
- . gravidez ou lactação;
- . hipertensão grave ou de difícil controle;
- . impedimento anatômico à endoscopia.

Foram registrados dados pessoais como idade e sexo.

Os pacientes foram divididos em dois subgrupos, aleatoriamente, e submetidos a dois ensaios terapêuticos:

a - 16 pacientes (três mulheres, idade média de 32,5 anos e faixa etária de 25 a 45 anos) receberam durante um mês um antagonista dos receptores  $H_2$  (cimetidina), na dose de 800 mg/dia.

b - 25 pacientes (seis mulheres, idade média de 36,5 anos e faixa etária de 28 a 45 anos) receberam um esquema tríplice de antimicrobianos (furazolidona 100mg t.i.d. durante 30 dias, metronidazol 250 mg t.i.d. e amoxicilina 500 mg t.i.d. durante cinco dias).

Não foram feitas recomendações especiais quanto à dieta e ao hábito de fumar. Foi desaconselhado o uso de bebidas alcoólicas durante o período de tratamento pela possibilidade de aparecimento de efeito tipo antabuse, produzido tanto pelo metronidazol quanto pela furazolidona.

Os procedimentos microbiológicos foram executados no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina da UFMG e os procedimentos histológicos no Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG.

## 2.2 - COLHEITA DE MATERIAL

Os pacientes, mantidos em jejum de no mínimo oito horas, foram submetidos à esofagogastroduodenoscopia após receberem benzodiazepínico (Diazepam<sup>®</sup> 5 mg) por via oral e anestesia tópica da orofaringe com cloridrato de lidocaína (Xilocaina<sup>®</sup> spray 10% MERREL LEPETIT)

O endoscópio utilizado foi o Olympus GIF-XQ10 com seu respectivo fórceps de biopsia e entre uma biopsia e

outra o fórceps era tratado com álcool etílico a 70%.

Foram selecionados pacientes com úlcera duodenal em fase A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, H<sub>1</sub> ou H<sub>2</sub> de acordo com os critérios de estadiamento de SAKITA (1973).

Foram colhidos quatro fragmentos da mucosa antral de cada paciente para histologia, cultura, esfregaços e teste da urease pré-formada, e dois fragmentos da mucosa oxíntica para histologia e cultura. Estes fragmentos foram obtidos antes do tratamento e um e três meses após o término do mesmo.

### 2.3 - EXAMES MICROBIOLÓGICOS PARA DETECÇÃO DO H. pylori

A presença do H. pylori no antro gástrico foi pesquisada através da cultura (QUEIROZ et al, 1987), do teste da urease pré-formada (McNULTY & WISE, 1985a) e da pesquisa de bactérias espiraladas nos esfregaços corados pela carbolfucsina (ROCHA et al, 1989). No corpo gástrico a pesquisa da bactéria foi feita apenas pela cultura.

#### 2.3.1 - Cultura

Os fragmentos para cultura foram transportados em 0,5 ml de caldo tioglicolato sem indicador (Difco Laboratories, Detroit, Michigan) e mantidos a 4°C, por no máximo 5 horas, até serem plaqueados em meio seletivo-

indicador (meio Belo Horizonte - BHM), preparado com ágar infusão de cérebro e coração (BHI - Difco), suplementado com sangue de carneiro a 10% e uma concentração final de 6 mg de vancomicina (Sigma), 20 mg de ácido nalidíxico (Sigma), 2 mg de anfotericina B (Sigma) e 40 mg/L de cloreto de trifeniltetrazólio (Riedel). Após a semeadura, as placas foram incubadas a 37°C em atmosfera de microaerofilia obtida através do sistema Anaerocult C (Merk), durante 4 a 7 dias.

A identificação do microorganismo, após o seu crescimento, foi feita através da morfologia colonial no meio BHM (colônias puntiformes, brilhantes, circulares, convexas, não hemolíticas e de coloração dourada); da morfologia microscópica em esfregaços corados pela carbolfucsina (presença de bastonetes espiralados) e através das reações de oxidase e catalase (positivas) e teste da urease (rapidamente positivo) (OWEN et al, 1985; LANGENBERG et al, 1984).

### 2.3.2 - Teste da urease pré-formada

Para a pesquisa de urease pré-formada, cada fragmento de biopsia da região antral era colocado em um tubo contendo ágar uréia de Christensen (Difco) e mantido a 37°C por no máximo 24 horas. A reação era considerada positiva quando ocorria mudança de coloração do meio de amarelo para róseo (McNULTY & WISE, 1985a - modificado).

### 2.3.3 - Exame direto

Um fragmento do antro gástrico era imediatamente esfregado em uma lâmina que era fixada pelo calor e corada pela carbolfucsina a 40% (ROCHA et al, 1989). A pesquisa de microrganismos espiralados era feita através do exame da lâmina com objetiva de imersão.

## 2.4 - HISTOLOGIA

Os fragmentos da mucosa antral e oxíntica de cada paciente eram fixados em Bouin (solução de ácido pícrico saturada - 75ml, formaldeído 40% - 25ml e ácido acético glacial - 5ml) por 12 a 24 horas. Em seguida eram desidratados em álcool e xilol e incluídos em parafina. Cortes de 4 $\mu$ m de espessura foram obtidos e corados pela hematoxilina-eosina.

Os achados histológicos da mucosa antral e oxíntica foram analisados e classificados de acordo com os critérios de classificação de Sydney (MICIEWCZ, 1990), ligeiramente modificados, em dois grupos:

a - ausência de gastrite à histologia - epitélio superficial e glandular morfológicamente sem alterações, com ausência de células inflamatórias na lâmina própria;

b - presença de gastrite à histologia - presença de infiltrado inflamatório de células mononucleares na lâmina própria, predominando na parte superficial da mucosa, distribuído difusamente ou em focos. A intensidade da gastrite foi graduada em leve (+), moderada (++) e intensa (+++). Este grupo foi subdividido em dois de acordo com a presença ou ausência de atividade inflamatória. A atividade também foi graduada em leve (+), moderada (++) e intensa (+++) referindo-se à presença de polimorfonucleares neutrófilos na lâmina própria e/ou no epitélio glandular e superficial.

## 2.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos resultados obtidos foram aplicados os seguintes métodos:

a - os resultados do teste da urease rápida e do exame direto do esfregaço corado pela carbolfucsina foram comparados ao resultado da cultura do antro gástrico, através dos índices de sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo (GRINER, 1981);

b - utilizou-se o teste exato de Fisher ou o teste do qui quadrado ( $\chi^2$ ) (SNEDECOR & COCHRAN, 1967), para a identificação da associação da presença do *H. pylori*, conforme resultado da cultura do antro gástrico, com: a

resposta ao tratamento com antimicrobianos antes, e após um e três meses; a resposta ao tratamento com antimicrobianos e cimetidina antes e após um mês e o índice de cicatrização da úlcera duodenal após tratamentos com antimicrobianos e cimetidina; e

c - o teste de Wilcoxon foi aplicado para a comparação da intensidade da gastrite e da atividade inflamatória do antro gástrico antes e um e três meses após o tratamento com antimicrobianos e cimetidina (SNEDECOR & COCHRAN, 1967).

O valor da probabilidade de significância foi apresentado em todos os casos, mas considerou-se como diferença estatisticamente significativa uma probabilidade menor que 0,05.

Os cálculos estatísticos foram feitos através do programa TRUE EPISTAT nas versões disponíveis no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina/UFMG.

## RESULTADOS

### 3.1 - EXAMES MICROBIOLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO DO H. pylori.

#### 3.1.1 - Antes do tratamento

H. pylori foi isolado do antro gástrico dos 41 (100%) pacientes estudados. Como em todos pacientes o exame direto e a pesquisa de urease pré-formada também foram positivos, a sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo positivo destes métodos quando comparado com a cultura, que foi utilizada como padrão ouro, foram de 100%.

Houve também concordância de 100% entre os resultados da cultura do antro e do corpo gástrico nos pacientes estudados. H. pylori foi também isolado da mucosa oxíntica dos 41 pacientes (100%).

#### 3.1.2 - Após o tratamento.

Os resultados do teste da urease pré-formada e do esfregaço corado pela carbolfucsina comparados com os resultados da cultura após o tratamento com antimicrobianos encontram-se na Tabela 2. Neste grupo a sensibilidade, especificidade e os valores preditivos positivo e negativo do exame direto do esfregaço e da urease pré-formada, em relação à cultura do antro, foram de 92,3%, 100%, 100% e 96,5% e 84,6%, 100%, 100% e 93,3% respectivamente. Para estes cálculos foram incluídos os materiais dos pacientes

que retornaram um e três meses após o tratamento.

Após o tratamento com cimetidina não foram observadas diferenças quanto à sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo do teste da urease pré-formada e do exame direto em relação à cultura.

TABELA 2

Comparação entre os testes da urease pré-formada e exame de esfregaços corados pela carbolfucsina com a cultura de fragmentos de biopsia da mucosa antral após tratamento com antimicrobianos.

Testes	Cultura		
	Positiva	Negativa	Total
Urease pré-formada			
positiva	11	0	11
negativa	02	28	30
Total	13	28	41
Carbolfucsina			
positiva	12	0	12
negativa	01	28	29
total	13	28	41

### 3.2 - EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE A ERRADICAÇÃO DO *H. pylori*.

#### 3.2.1 - Tratamento com antimicrobianos

Um mês após o término do tratamento com antimicrobianos, 18 (72%) pacientes negativaram a cultura e os demais testes. Quando se comparou a positividade do *H. pylori* antes e um mês após o tratamento com antimicrobianos foi observada uma diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,00000003$ ) (TAB. 3).

Dentre os pacientes que retornaram para o 2º controle, três meses após o término do tratamento, dez (62,5%) permaneceram *H. pylori* negativos e três (18,75%) tornaram-se novamente *H. pylori* positivos ( $p = 0,000007$ ).

TABELA 3

Efeito do tratamento com antimicrobianos sobre a erradicação do *H. pylori*.

Tratamento com antimicrobianos	Pesquisa de <i>H. pylori</i>				
	positiva		negativa		total n
	n	%	n	%	
Antes	25	100	0	0	25
Após (meses)					
1	7	28	18	72	25
3	6	37,5	10	62,5	16

n, número de pacientes

Não se observou diferença significativa na taxa de erradicação do *H. pylori* quando pacientes do sexo masculino foram comparados com pacientes do sexo feminino ( $p=0,64$ ) (TAB. 4).

TABELA 4

Comparação entre as taxas de erradicação do *H. pylori* de pacientes do sexo feminino e masculino.

Sexo	H. pylori		Total n
	positivo	negativo	
Feminino	1	5	6
Masculino	6	13	19

n, número de pacientes

$p=0,64$

### 3.2.2 - Tratamento com cimetidina

Nos 16 pacientes tratados com cimetidina a cultura e os demais exames microbiológicos permaneceram positivos após o tratamento. Em relação à erradicação do *H. pylori* observou-se diferença estatisticamente significativa quando pacientes tratados com antimicrobianos foram comparados com aqueles tratados com cimetidina (TAB. 5).

TABELA 5

Comparação entre a taxa de erradicação de *H. pylori* de pacientes tratados com antimicrobianos e cimetidina.

Esquema Terapêutico	Cultura Positiva		Cultura Negativa		Total n
	n	%	n	%	
	Antimicrobianos	7	28	18	72
Cimetidina	16	100	0	0	16

n, número de pacientes

$\chi^2 = 17,7$  ,  $p = 0,00003$

### 3.3 - ÍNDICES DE CICATRIZAÇÃO DA ÚLCERA DUODENAL APÓS TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETINA.

À endoscopia, foi observada cicatrização da úlcera duodenal em 36 (87,8%) pacientes, um mês após o término do tratamento com antimicrobianos ou cimetidina; não tendo sido observada diferença estatisticamente significativa entre os tipos de tratamento ( $p=0,36$ ).

Cicatrização da úlcera duodenal foi observada em 92,0% (n=23) dos pacientes tratados com antimicrobianos, embora cinco deles permanecessem *H. pylori* positivos.

### 3.4 - HISTOLOGIA DA MUCOSA ANTRAL E OXÍNTICA ANTES DO TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA.

Os 41 pacientes com úlcera duodenal apresentaram gastrite crônica superficial do antro à histologia, tendo sido observada atividade inflamatória em 29 (70,8%) deles. (TAB. 6), (FIG. 1, FIG. 2).

TABELA 6

Histologia da mucosa antral de 41 pacientes H. pylori-positivos com úlcera duodenal.

Histologia da mucosa do antro gástrico	Pacientes		
	n	%	
Normal	0	0	
Gastrite crônica superficial sem atividade			
discreta	3	7,3	29,2
moderada	9	21,9	
Gastrite crônica superficial com atividade			
moderada	17	41,5	70,8
intensa	12	29,3	

n, número de pacientes

Entre os 20 pacientes estudados, a mucosa oxíntica era normal em 18 (90%) e gastrite crônica superficial estava presente em dois (10%) pacientes. (FIG. 1).

FIGURA 1 - Fotomicrografia da mucosa antral e oxíntica. Hematoxilina-eosina, aumento 100 X. A) Mucosa oxíntica com infiltrado inflamatório difuso, em faixa, ocupando apenas a região superficial. B) Mucosa antral com infiltrado inflamatório difuso, na lâmina própria, ocupando toda a espessura da mucosa, principalmente a metade superficial.

### 3.5 - HISTOLOGIA DA MUCOSA ANTRAL E OXÍNTICA APÓS TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA.

Um mês após o tratamento com antimicrobianos uma diminuição significativa da intensidade e da atividade inflamatória da gastrite antral foi observada em 20 (80,0%) pacientes. A redução da intensidade da gastrite e da atividade inflamatória foi mais evidente nos 18 pacientes nos quais a cultura para *H. pylori* foi negativa um mês após o tratamento ( $p=0,00001$ )(TAB. 6).

Em relação à mucosa oxíntica, em um dos dois pacientes que apresentavam gastrite crônica superficial ocorreu normalização do quadro histológico.

No controle realizado três meses após o tratamento com antimicrobianos, dez pacientes permaneceram *H. pylori* negativo, três permaneceram *H. pylori* positivos e três que anteriormente eram *H. pylori* negativos tornaram-se *H. pylori* positivos. À histologia, seis dentre os dez pacientes *H. pylori* negativos apresentaram a mucosa antral histologicamente normal (FIG. 2). Nos quatro outros pacientes foi observada diminuição da intensidade de gastrite e da atividade inflamatória. Nos três pacientes que voltaram a apresentar cultura para *H. pylori* positiva houve aumento da intensidade e da atividade inflamatória da mucosa gástrica.

No grupo de pacientes tratados com cimetidina não houve diferença estatisticamente significativa quanto à

intensidade e atividade inflamatória da gastrite antral antes e um mês após o tratamento ( $p=0,06$ ).

TABELA 7

Estudo microbiológico e histológico da mucosa antral de pacientes com úlcera duodenal antes e após tratamento com esquema triplice de antimicrobianos.

Pacientes	Tratamento								
	Antes			1 mês após			3 meses após		
	GCS <sup>a</sup>	Ativ <sup>b</sup>	HP <sup>c</sup>	GCS	Ativ	HP	GCS	Ativ	HP
1	+++ <sup>d</sup>	+++	P <sup>e</sup>	- <sup>f</sup>	-	N <sup>g</sup>			
2	++	-	P	-	-	N	-	-	N
3	+++	+++	P	++	++	P			
4	+++	+++	P	+	-	N	+++	++	P
5	++	-	P	+	-	N			
6	+++	++	P	++	++	P			
7	++	-	P	++	++	P			
8	+++	+++	P	++	-	N	-	-	N
9	+	-	P	+++	+++	P	+++	+++	P
10	+++	++	P	++	-	N	++	-	P
11	+++	+++	P	++	-	N	-	-	N
12	+++	++	P	+	-	N			
13	++	-	P	+++	++	P	+	-	P
14	+++	+++	P	+	-	N	-	-	N
15	++	-	P	++	-	P			
16	+	-	P	+	-	N	+	-	N
17	++	-	P	+	-	N	+++	+++	P
18	+++	++	P	+++	++	P	+++	++	P
19	+++	+++	P	-	-	N			
20	+++	+++	P	++	-	N			
21	+++	++	P	+	-	N	-	-	N
22	+++	++	P	+	-	N	+	-	N
23	+++	+++	P	++	-	N	+	-	N
24	+++	+++	P	+	-	N	+	-	N
25	+++	+++	P	+	-	N	-	-	N

a, gastrite crônica superficial; b, atividade inflamatória; c, H. pylori; d, graduação; e, positivo; f, ausência; g, negativo

## RESULTADOS

FIGURA 2 - Fotomicrografia da mucosa antral. Hematoxilina-eosina, aumento 200 X. A) Gastrite crônica superficial com intensa atividade inflamatória (antes do tratamento). B) Mucosa histologicamente sem alterações (após o tratamento com antimicrobianos).

## DISCUSSÃO

#### 4.1 - EXAMES MICROBIOLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO DO H. pylori

Neste estudo, antes do tratamento foi observado uma concordância de 100% no resultado dos três métodos empregados para a detecção do H. pylori (cultura, teste da urease pré-formada e exame direto). Entretanto, após o tratamento com antimicrobianos foi observado uma diminuição na sensibilidade e no valor preditivo negativo do teste da urease pré-formada e no exame direto de esfregaços corados pela carbolfucsina. Estes dados, também observados por outros autores (BORROMEO et al, 1987; McNULTY et al, 1989; DELTENRE, et al, 1989), demonstram que provavelmente o número de microrganismos presentes na mucosa antral tenha diminuído após o uso de antimicrobianos, limitando o emprego do exame direto e do teste da urease pré-formada para controle de tratamento. Por outro lado, como a cultura pode detectar um pequeno número de microrganismos este deve ser o método preconizado para o controle da erradicação do H. pylori.

#### 4.2 - EFEITO DO TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA SOBRE A ERRADICAÇÃO DO H. pylori.

Existe uma discordância entre a sensibilidade "in vitro" e a eficácia "in vivo" dos agentes antimicrobianos empregados para a eliminação do H. pylori (Mc NULTY et al,

1986b; GLUPCZYNSKI et al, 1988). Entre os vários fatores sugeridos como responsáveis por estes achados estão a reduzida atividade de alguns antibióticos em meio ácido e a dificuldade de se atingir a concentração inibitória no muco e nas criptas gástricas (GLUPCZYNSKI et al, 1989). Assim, a associação de agentes antimicrobianos de ação predominantemente tópica, como a furazolidona (PAUL et al, 1960) com aqueles de ação sistêmica, como o metronidazol tem sido preconizada para obtenção de melhores resultados (BORODY et al, 1989; BORSCH et al, 1989; COELHO, 1990).

No presente estudo, em 18 (72%) pacientes a cultura para *H. pylori* tornou-se negativa um mês após o tratamento com esquema triplice de antimicrobianos. Por outro lado, todos os pacientes tratados com cimetidina permaneceram *H. pylori* positivos. Estes dados confirmam a eficácia do esquema triplice composto de furazolidona, amoxicilina e metronidazol, empregado no presente estudo, para a erradicação do *H. pylori*. Entretanto, em alguns pacientes a cultura permaneceu positiva, a despeito do uso de antimicrobianos, o que merece algumas considerações. Esquemas terapêuticos empregando três drogas antimicrobianas apresentam maior eficácia na erradicação do *H. pylori*, embora a associação de várias drogas aumente os efeitos colaterais apresentados pelos pacientes como náuseas, vômitos, mal estar e diarreia. Este fato pode ser o responsável pelo abandono do tratamento, assim como o consumo de álcool, provocando efeito antabuse, quando

associado tanto ao metronidazol quanto à furazolidona. A resistência rapidamente adquirida pelo *H. pylori* aos antimicrobianos também tem sido descrita por alguns autores (GLUPCZYNSK et al, 1990) como um dos fatores responsáveis pela ineficácia do tratamento, principalmente pelo metronidazol, agente antimicrobiano amplamente utilizado no tratamento de parasitoses intestinais como giardíase e amebíase, bem como na terapêutica da tricomoníase. Em um estudo em andamento no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia (dados não publicados), a resistência ao metronidazol tem sido observada em aproximadamente 48% das amostras de *H. pylori*; o que mostra a elevada taxa de resistência a este antimicrobiano, no nosso meio.

Neste estudo foi observado que alguns pacientes tornaram-se novamente *H. pylori* positivos, três meses após o tratamento. Não se sabe se este fato deve-se a uma nova infecção (reinfecção) ou à recrudescência da infecção que tem sido descrita por alguns autores (COGHLAN et al, 1987, BORODY et al, 1989, BORSCH et al, 1989). Neste último caso, após o uso de antimicrobianos ocorreria apenas inibição do microrganismo com conseqüente melhora clínica e laboratorial temporária dos pacientes.

Nos países desenvolvidos, onde as taxas de infecção na população são em média 30%, a repositivação das culturas para *H. pylori* após tratamento ocorrem em torno de 1 a 10% (COGHLAN et al, 1987, GEORGE et al, 1990). Nos países em desenvolvimento é de se esperar que a

repositivação seja muito mais frequente pois a prevalência da infecção na população em geral é elevada. Em estudos desenvolvidos no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia a prevalência da infecção em doadores de sangue em Belo Horizonte é de 62,1% (dados não publicados).

#### 4.3 - ÍNDICES DE CICATRIZAÇÃO DA ÚLCERA DUODENAL APÓS TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA.

Não foi observada, no presente estudo, diferença significativa entre os dois tipos de tratamento empregados, no que se refere à cicatrização da úlcera duodenal. Nos pacientes que usaram antimicrobianos foi observada cicatrização mesmo quando o *H. pylori* não foi erradicado.

O mecanismo de ação de alguns antimicrobianos na cicatrização da úlcera duodenal não está, ainda, bem estabelecido. Algumas drogas, tais como o bismuto, apresentam além de atividade antibacteriana, atividade de citoproteção sobre o epitélio gastroduodenal (GOODWIN et al, 1986a). É possível que a furazolidona também apresente alguma atividade citoprotetora que poderia ser a responsável pela cicatrização da úlcera, mesmo na presença do *H. pylori*. Por outro lado, uma outra possibilidade deve ser considerada. Nos pacientes nos quais o microrganismo não foi erradicado, é possível que tenha ocorrido uma diminuição do número de microrganismos, fato que foi observado

indiretamente, visto que os testes da urease e do esfregaço corado pela carbolfucsina apresentaram sensibilidade menor que a cultura. Estes testes não detectam pequeno número de bactérias. O tratamento empregado, embora não tenha erradicado o *Helicobacter pylori* em todos os casos, levou à diminuição do número de microrganismos ou alterou suas propriedades o que pode ter sido suficiente para promover a cicatrização da úlcera.

#### 4.4 - HISTOLOGIA DA MUCOSA ANTRAL E OXÍNTICA ANTES E APÓS TRATAMENTO COM ANTIMICROBIANOS E CIMETIDINA.

No início do século alguns autores tentaram demonstrar a participação de microrganismos na patogênese de afecções gastroduodenais; entretanto, somente em 1983 WARREN & MARSHALL conseguiram isolar bactérias espiraladas da mucosa gástrica de indivíduos com gastrite crônica. Atualmente o *H. pylori* é considerado o agente mais frequente e importante de gastrite em seres humanos (WARREN & MARSHALL, 1983; LANGENBERG et al, 1984; GOODWIN et al, 1986b; BARTHEL et al, 1988; QUEIROZ et al, 1988).

A gastrite crônica do antro tende a ser progressiva, podendo evoluir, em alguns pacientes até a atrofia gástrica. Por outro lado, raramente se observa o desaparecimento espontâneo da gastrite (KEKKI et al, 1987). Existem, ainda, evidências de que indivíduos com gastrite têm

um risco dez vezes maior de desenvolver úlcera péptica que aqueles nos quais a mucosa gástrica é normal (SIPPONEN et al, 1989).

A associação de gastrite crônica do antro e úlcera duodenal tem sido demonstrada desde há muitos anos (MAC KAY & HISLOP, 1966; TATSUTA et al, 1986; SIPPONEN et al, 1989); entretanto, só recentemente ficou demonstrado ser o *H. pylori* o agente desta gastrite.

A gastrite causada pelo *H. pylori* é caracterizada principalmente pela desorganização da estrutura e da função das glândulas mucosas e pelo aumento do número de células inflamatórias na mucosa (HESSEY et al, 1990; PRICE, 1988). Na maioria dos pacientes *H. pylori* positivos leucócitos polimorfonucleares estão presentes na lâmina própria e nas glândulas epiteliais e em, virtualmente, todos os pacientes existe um aumento do número de células inflamatórias mononucleares na lâmina própria como linfócitos, macrófagos e plasmócitos (TYTGAT et al, 1990).

O *H. pylori* não invade os tecidos, mas localiza-se no muco e na superfície das células epiteliais (HAZZELL et al, 1986). O microrganismo causa uma resposta inflamatória no hospedeiro provavelmente devido à difusão dos seus produtos para a intimidade dos tecidos da mucosa gástrica. A urease da bactéria gera amônia, sabidamente tóxica para as células eucariotas (VISEK, 1968). Também tem sido relatado que o *H. pylori* secreta uma citotoxina (COVER et al, 1990). A amônia e a citotoxina agem conjuntamente causando injúria

nas células da mucosa gástrica (COVER et al, 1991). Além do mais, o próprio lipopolissacáride do microrganismo, à semelhança das endotoxinas dos microrganismos Gram negativos, apresenta um certo grau de toxicidade (PEREZ-PEREZ & BLASER, 1987). O *H. pylori* também produz um fator ativador de plaquetas que é responsável por uma série de atividades pré-inflamatórias (DENIZOT et al, 1990). Um ou vários destes produtos do *H. pylori* podem agir como mediadores da inflamação. Porém, o estômago, diferentemente das demais porções do trato gastrointestinal (BRANDTZAEG et al, 1989), apresenta estruturas imunológicas rudimentares, contando mais com o peristaltismo e a acidez para prevenir-se contra a ação de microrganismos. Assim, encontra-se de certa forma desprotegido, ficando susceptível à ação de bactérias (como o *H. pylori*) que conseguem driblar estes mecanismos de defesa. A relação *H. pylori* e mucosa gástrica decorre principalmente das características do microrganismo e do hospedeiro descritas acima, que levam a um quadro de gastrite de longa duração. O microrganismo não é invasor o suficiente para levar a um dano maior ao hospedeiro. Por outro lado, o hospedeiro não dispõe de mecanismos mais eficientes para destruir o microrganismo. Por estes motivos a história natural da doença quase que só pode ser alterada através, por exemplo, de um tratamento com drogas antimicrobianas capazes de erradicar o microrganismo.

Neste estudo, os 41 (100%) pacientes com úlcera duodenal apresentaram gastrite crônica do antro em

diferentes graus de intensidade. Os achados histológicos na mucosa oxíntica foram menos pronunciados, apesar da presença do *H. pylori*.

STOLTE et al (1990) demonstraram uma associação entre o índice de colonização do *H. pylori* e a intensidade do processo inflamatório na mucosa antral e oxíntica em 1.265 pacientes com gastrite crônica. Os autores encontraram uma colonização bacteriana semelhante nas duas regiões, porém um grau e atividade da gastrite maior na mucosa antral. QUEIROZ et al (1988) obtiveram dados semelhantes e sugerem que esta diferença deve-se à maior resistência da mucosa oxíntica.

Neste trabalho, nos 18 pacientes nos quais a cultura se negativou um mês após o tratamento com antimicrobianos houve uma diminuição significativa da intensidade da gastrite e da atividade inflamatória, sendo que em seis pacientes ocorreu normalização da histologia da mucosa gástrica três meses após o tratamento. Estes resultados fornecem evidências de que a gastrite observada nos pacientes *H. pylori* positivos deve-se à presença do microrganismo, especialmente por que quando não se conseguiu a erradicação da bactéria não ocorreu redução da gastrite. Nos sete pacientes nos quais a cultura para *H. pylori* manteve-se positiva as alterações histológicas também permaneceram inalteradas. Nos três pacientes nos quais ocorreu repositivação da cultura para *H. pylori* também houve aumento da intensidade da gastrite e reaparecimento da

atividade inflamatória.

Nos pacientes tratados com cimetidina, não obstante ter-se conseguido a cicatrização da úlcera duodenal, não foram observadas alterações na histologia da mucosa gástrica.

O desaparecimento da atividade inflamatória foi observado logo após a eliminação do microrganismo, entretanto, o desaparecimento completo da gastrite ocorreu mais lentamente, três meses após o tratamento. VALLE et al (1991) obtiveram resultados semelhantes ao deste trabalho quando acompanharam durante 12 meses 23 pacientes com gastrite crônica do antro, tratados com antimicrobianos (subcitrato de bismuto, amoxicilina e metronidazol). No estudo foi feita uma avaliação semi-quantitativa da densidade de células inflamatórias presentes na mucosa do antro e do corpo gástrico. A erradicação do *H. pylori* foi observada em 20 pacientes seis meses após o tratamento e em 18 um ano após. Paralelamente foi observada uma diminuição da atividade inflamatória e normalização histológica da mucosa antral 12 meses após o tratamento em dez pacientes (56%). Os autores sugerem que a diminuição da atividade inflamatória é uma boa indicação de sucesso na erradicação do *H. pylori* e que a normalização completa da mucosa gástrica ocorre só mais tardiamente.

## **CONCLUSÕES**

1 - A associação de três antimicrobianos (furazolidona, amoxicilina e metronidazol) mostrou-se eficaz na erradicação do *H. pylori*.

2 - A erradicação do *H. pylori* foi acompanhada de diminuição, estatisticamente significativa, da atividade inflamatória e da intensidade da gastrite bem como de cicatrização da úlcera duodenal.

3 - Nos pacientes nos quais a cultura para *H. pylori* tornou-se novamente positiva foi observado reaparecimento da gastrite.

4 - O teste da urease pré-formada e o exame direto de esfregaços corados pela carbolfucsina, embora muito sensíveis para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* em pacientes com úlcera duodenal antes do tratamento, apresentam sensibilidade menor para avaliação da erradicação da bactéria após o uso de antimicrobianos.

## RESUMO

Quarenta e um pacientes com úlcera duodenal foram divididos em dois grupos e tratados com esquema triplíce de antimicrobianos (furazolidona, metronidazol e amoxicilina) ou com um inibidor de receptor  $H_2$  (cimetidina). Os pacientes foram reavaliados um e três meses após o tratamento. Fragmentos de biopsia da mucosa antral e oxíntica foram retirados para estudos histológico e microbiológico.

A pesquisa do *H. pylori*, realizada antes do tratamento, foi positiva no antro e no corpo gástrico de todos os pacientes.

Um mês após o tratamento com antimicrobianos, a pesquisa de *H. pylori* através da cultura, teste da urease pré-formada e exame direto de esfregaços corados pela carbolfucsina foi negativa em 18 (72,0%) pacientes. Dez (62,5%) pacientes, dentre 16 que retornaram para o 2º controle permaneceram *H. pylori* negativos. Nos pacientes que receberam cimetidina a pesquisa de *H. pylori* permaneceu positiva após o tratamento.

Cicatrização da úlcera duodenal foi observada em 92,0% dos pacientes tratados com antimicrobianos e em 81,25% daqueles que receberam cimetidina.

No que se refere aos aspectos histológicos, nos pacientes tratados com antimicrobianos houve redução significativa ( $p < 0,0001$ ) da atividade inflamatória e da intensidade da gastrite, o que não foi observado nos pacientes tratados com cimetidina. Três pacientes tratados com antimicrobianos, no controle de três meses, voltaram a

apresentar cultura positiva para *H. pylori*. Nestes ocorreu reaparecimento da gastrite à histologia.

## SUMMARY

We studied 41 patients with duodenal ulcer who were divided in two groups: 25 were treated with a triple antimicrobial schedule (furazolidone, metronidazole and amoxicillin), and 16 were treated with H<sub>2</sub> receptor antagonist (cimetidine).

The patients were restudied one and three months after stopping treatment. Biopsy specimens were obtained from antral and oxyntic mucosa of each patient for histology and microbiology. *H. pylori* was detected in the antral and oxyntic mucosa of all patients before treatment.

One month after stopping treatment with antimicrobial drugs, *H. pylori* was not detected by culture, preformed urease test or smears stained by carbolfuchsin in 18 (72%) patients. Ten patients out 16 who returned to the second follow-up remained *H. pylori* negative. The patients who had received cimetidine remained *H. pylori* positive after treatment.

Healing of duodenal ulcer was observed in 92% of the patients treated with antimicrobial drugs and in 81.25% of the patients treated with cimetidine. As far as histologic features are concerned, the patients treated with antimicrobial drugs presented a significant decrease of the inflammatory activity and of the grade of gastritis. These findings were not observed in the patients treated with cimetidine. In the 3 month follow-up, three patients who had received triple therapy, became *H. pylori* positive by culture, and at histology, the gastritis relapsed.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ANDREASEN, J.J. & ANDERSEN, L.P. In vitro susceptibility of *C. pyloridis* to cimetidine, sucralfate, bismuth and sixteen antibiotics. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol Scand* v. 95, p. 147-149, 1987.
- BARON, J.H. Current views on pathogenesis of peptic ulcer. *Scand. J. Gastroenterol.* v. 17, Suppl 80, p. 1-10, 1982.
- BARTHEL, J.S., WESTBLOM T.U, HAVEY, A.D., GONZALEZ, F., EVERETT, E.D. Gastritis and *C. pylori* in healthy, asymptomatic volunteers. *Arch. Intern. Med.* v. 148, p. 1149-51, 1988.
- BLASER, M.J. Gastric *Campylobacter*-like organisms, gastritis, and peptic ulcer disease. *Gastroenterology.* v. 93, p. 371-383, 1987.
- BOOTH, L., HOLDSTOCK, G., Mac BRIDE, H., HAWTIN, P., GIBSON, J.R., IRELAND, A., BAMFORTH, J., DUBOULAY, C.E., LLOYD, R.S., PEARSON, A.D. Clinical importance of *C. pyloridis* and associated serum IgG and IgA antibody responses in patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy. *J. Clin. Pathol.* v. 39, p. 215-219, 1986.
- BORSCH, G., MAI, U., OPFERKUCH, W. Short and medium-term results of oral triple therapy to eradicate *C. pylori*. *Gastroenterology.* v. 96, p. A53, 1989 (Abstract).
- BORODY, T.J., COLE, P., NOONON, S., MORGAN, A., LENNE, J., HYLAND, L., BRAND, L.S., BORODY, E.G., GEORGE, L.L. Recurrence of duodenal ulcer and *C. pylori* infection after eradication. *Med. J. Aust.* v. 151, p. 431-435, 1989.
- BORROMEO, H., LAMBERT, J.R., PINKARD, K.J. Evaluation of "CLO test" to detect *C. pyloridis* in gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.* v. 40, p. 462-3, 1987.
- BRADTZAEG, P., HALSTENSEN, T.J., KETH, K., KRAJCI, P., KVALE, D., ROGNUN, T.O., SCOTT, H. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intra epithelial lymphocytes. *Gastroenterology.* v. 97, p. 1562-1584, 1989.
- BUCK, G.E. & SMITH, J.S. Medium supplementation for growth of *C. pylori*. *J. Clin. Microbiol.* v. 25, p. 597-599, 1987.
- CHEN, X.G., CORREA, P., OFFERHAUS, J., RODRIGUES, E., JANNEY, F., HOFFMAN, E., FOX, J., HUNTER, F., DIAVOLITSIS, S. Ultrastructure of the gastric mucosa harboring *Campylobacter*-like organisms. *Am. J. Clin. Pathol.* v. 86, p. 575-582, 1986.
- CHODOS, J.E., DWORKIN, B.M., SMITH, F., HORN, K.V., WEISS, L., ROSENTHAL, W.S. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal

- disease. A prospective endoscopic study and comparasion of diagnostic tests. *Am. J. Gastroenterol.* v. 83, p. 1226-1230, 1988.
- CLAUSEN, C.R., CHRISTIE, D.L. Chronic diarrhoea in infants caused by adherent enteropathogenic *E. coli*. *J. Pediatr.* v. 100, p. 358-361, 1982.
- COELHO, L.G.V., QUEIROZ, D.M.M., BARBOSA, A.J.A., MENDES, E.N., ROCHA, G.A., OLIVEIRA, C.A. *Campylobacter pyloridis* in the upper gastrointestinal tract: a brazilian study. *Arq. Gastroenterol.* v. 24, p.5-9, 1987.
- COELHO, L.G.V., DAS, S.S., PAYNE, A., KARIN, Q.N., BARON, J.H., WALKER, M.M. *C. pylori* in the esophagus, antrum and duodenum. A histological and microbiological study. *Dig. Dis. Sci.* v. 34, p. 445-448, 1989.
- COELHO, L.G.V., PASSOS, M.C.F., QUEIROZ, D.M.M., BARBOSA, A.J.A., MENDES, E.N., ROCHA, G.A., OLIVEIRA, C.A., LIMA Jr., G.F., CASTRO, L.P. Five-day triple therapy and 15-day double therapy on *H. pylori* eradication. IN: MALFERTHNER, P. & DITSCHUNEIT, H. (eds). *H. pylori* gastritis and peptic ulcer. Springer-Verlag, Berlin, P. 438-440, 1990.
- COGHLAN, J.G., GILLIGAN, D., HUMPHRIES, H., McKENNA, D., DOODLEY, C. *C. pylori* and recurrence of duodenal ulcers a 12 month follow-up study. *Lancet.* v. I, p. 1109-1111, 1987.
- COVER, T.L., DOODLEY, C.P., BLASER, M.J. Characterization and human serological response to proteines in *H. pylori* broth culture supernatants with vacuolizing cytoxin activity. *Infect. Immun.* v. 58, p. 603-610, 1990.
- COVER, T.L., PURYEAR, W., PEREZ-PEREZ, G.I., BLASER, M.J. Effect of urease on Hela cell vacuolation induced by *H. pylori* cytotoxin. *Infect. Immun.* v. 59, p. 1264-1270, 1991.
- DELTENRE, M., GLUPCZYNSK, Y., DE PREZ, C., NYST, J.F., BURETTE, A., LABBÉ, M., JONAS, C., DE KOSTER, E. The reliability of urease tets, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand. J. Gastroentèrol.* v. 24 (Suppl. 160), p. 19-24, 1989.
- DENIZOT, Y., SOBHANI, I., RAMBAUD, J., CEWIN, M., THOMAS, Y., BENVENISTE, J. PAF - acether synthesis by *H. pylori*. *Gut.* v. 31, p. 1242-1245, 1990.
- DENT, J.C., Mc NULTY, C.A.M., UFF, J.S., GEAR, M.W.L., WILKINSON, S.P. *Campylobacter pylori* urease: a new serological test (letter). *Lancet.* v. i, p. 1002, 1988.

- DOENGES, J.L. Spirochetes in the gastric glands of *Macacus rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proc. Soc. Exp. Med. Biol.* v. 38, p. 536-538, 1938.
- DRUMM, B., SHERMAN, P., CHIASSON, D., KARMALL, M., CUTZ, E. Treatment of *Campylobacter pylori*-associated antral gastritis in children with bismuth subsalicylate and ampicilin. *The Journal of Pediatrics.* v. 113, p. 908-912, 1988.
- ENGSTRAND, L., SCHNEYUS, A., PHALSON, C., GRIMELIUS, L., SCHAWN, A., GUSTAVASSON, S. Association of *C. pylori* with induced expression of class II transplantation antigens on gastric epithelial cells. *Infect. Immun.* v. 57, p.827-832, 1989.
- EVANS, D.J.Jr., EVANS, D.G., GRAHAM, D.Y., KLEIN, P.D. A sensitive and specific serologic test for detection of *C. pylori* infection. *Gastroenterology.* v. 96, p. 1004-1008, 1989.
- FIOCCA, R., VILLANI, L., TURPINI, F., TURPINI, R., SOLLIA, E. High incidence of *Campylobacter*-like organisms in endoscopic biopsies from patients with gastritis, with or without peptic ulcer. *Digestion.* v. 38, p. 234-244, 1987.
- FREEDBERG, A.S., BARRON, L.E. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. *Am. J. Dis.* v. 7, p. 443-445, 1940.
- FROMMER, D.S., CARRICK, J., LEE, A., HAZELL, S.L. Acute presentation of *C. pylori* gastritis. *Am. J. Gastroentrol.* v. 83, p. 1168-1171, 1988.
- GEAR, M.W.L., TRUELOVE, S.C., WHITEHEAD, R. Gastric ulcer and gastritis. *Gut.* v. 12, p. 639-645, 1971.
- GEORGE, L.L., BORODY, T.J., ANDREWS, P. Cure of duodenal ulcer after eradication of *H. pylori*. *Med. J. Aust.* v. 153, p.145-149, 1990.
- GILMAN, R.H., LEON-BARUAR, KOCH, J. Rapid identification of piloric *Campylobacter* in Peruvians with gastritis. *Dig. Dis. Sci.* v. 31, p. 1089-1094, 1986.
- GLEDHILL, H., LEISCHESTER, R.J., LIGHTFOOT, N. Epidemic hypochlorhydric. *Br. Med. J.* v. 290, p. 1383-1386, 1985.
- GLUPCZYNSKI, Y., BURETTE, A., LABBE, M., DEPREZ, C., DE REU, K., DELTENRE, M. *C. pylori*-associated gastritis: a double-blind, placebo controlled trial with amoxyllin. *Am. J. Gastroenterol.* v. 83, p. 365-372, 1988.
- GLUPCZYNSKI, Y., LABBE, M., VANDERLINDEN, BURETTE, A. Lack of antibiotic compliance in patients treated for *C. pylori*

- associated gastritis. *Am. J. Gastroenterol.* v. 84, p. 1126, 1989.
- GLUPCZYNSKI, Y. & BURETTE, A. Drug therapy for *H. pylori* infection: problems and pitfalls. *Am. J. Gastroenterol.* v. 85, p. 1545-1551, 1990.
- GOODWIN, C.S. et al. Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pylori* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.* v. 38, p. 1127-1131, 1985a.
- GOODWIN, C.S., Mc CULLOCH, R.K., ARMSTRONG, J.A., WEE, S.H. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *J. Med. Microbiol.* v. 19, p. 257-267, 1985b.
- GOODWIN, C.S., BLAKE, P., BLINCOW, E. The minimum inhibitory and bactericidal concentrations of antibiotics and anti-ulcer agents against *C. pyloridis*. *J. Antimicrob. Chemother.* v. 17, p. 309-314, 1986a.
- GOODWIN, C.S., ARMSTRONG, J.A., MARSHALL, B.J. *C. pyloridis*, gastritis and peptic ulceration. *J. Clin. Pathol.* v. 39, p. 353-365, 1986b.
- GOODWIN, C.S., BLINCOW, E., PETERSON, G., SANDERSON, C., CHENG, W., MARSHALL, B., WARREN, J.R., Mc CULLOCH, R. Enzyme linked immunosorbent assay for *C. pyloridis* correlation with presence *C. pyloridis* in the gastric mucosa. *J. Infect. Dis.* v. 155, p. 488-494, 1987.
- GOODWIN, C.S. Duodenal ulcer, *C. pylori* and the "leaking roof" concept. *Lancet.* Vol. 2, p. 1467-1469, 1988.
- GOODWIN, C.S., ARMSTRONG, J.A., CHILVERS, T., PETERS, M., COLLINS, C.M., SLY, L.I., Mc CONNELL, W., HARPER, W.E.J. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustalae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustalae* comb. nov., respectively. *Internat. J. Syst. Bacteriol.* v. 39, p. 397-405, 1989.
- GRAHAM, D.Y., KLEIN, P.D., EVANS, D.G., OPEKUN, A.R., BOUTTON, T.W. *Campylobacter pylori* detected non invasively by the  $C^{13}$ -ureia breath test. *Lancet.* v. 1, p. 1174-77, 1987.
- GRAHAM, D.Y., KLEIN, P.D., OPEKUN, A.R., BOUTTON, T.W. Effect of age on the frequency of active *C. pylori* infection diagnosed by the  $^{13}C$  ureia breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *J. Infect. Dis.* v. 157, p. 777-780, 1988.

- GRAHAM, D.Y., OPEKUN, A.R., LEW, G.M., EVANS, D.J., KLEIN, P.D., EVANS, D.G. Ablation of exaggerated meal-stimulated gastrin release in duodenal ulcer patients after clearance of *H. pylori* infection. *Am. J. Gastroenterol.* v. 85, p.394-398, 1990.
- GRAY, S.F. & WYATT, J. Simplified techniques for identifying *C. pyloridis*. *J. Clin. Pathol.* v. 39, p. 1279-1280, 1986.
- GRINER, I.S.. Principles of test interpretation. *Annals of Internal Medicine.* v. 94, p. 565-570, 1981.
- GUSTAVSSON, S., PHILLIPS, S.F., MALAGELADA, J.R., ROSENBLATT, J.E. Assessment of *Campylobacter*-like organisms in the post operative stomach, iatrogenic gastritis, and chronic gastroduodenal diseases: preliminary observations. *Mayo. Clin. Proc.* v. 62, p. 265-268, 1987.
- HAZZELL, S.L., LEE, A., BRADY, L., HENNESSY, W. *C. pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of gastric epithelium. *J. Infect. Dis.* v. 153, p. 658-6663, 1986.
- HAZZELL, S.L., BORODY, T.J., GAL, A., LEE, A. Detection of urease as marker of bacterial colonization and gastritis. *Am. J. Gastroenterol.* v. 82, p. 292-296, 1987.
- HESSEY, S.J., SPENCER, J., WYATT, J.F., SOBALA, G., RATHBONE, B.J., AXON, A.T.R., DIXON, M.F. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter* associated chronic gastritis. *Gut.* v. 31, p. 134-138, 1990.
- JAMES, A.G. Gastric epithelium in the duodenum. *Gut.* v. 5, p. 285-294, 1964.
- JOHNSTON, B.J., REED, B.I., HALI, M.H. *Campylobacter*-like organisms in duodenal and antral endoscopic biopsies: relationship to inflammation. *Gut.* v. 27, p. 1132-1137, 1986.
- JONES, D.M., LESSELS, A.M., ELDRIDGE, J. *Campylobacter*-like organisms on the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. *J. Clin. Pathol.* v. 37, p. 1002-1006, 1984.
- JONES, D.M., ELDRIDGE, J., WHORWELL, P.J. Antibodies to the gastric *campylobacter*-like organism (*C. pyloridis*) - clinical correlations and distribution in the normal population. *J. Med. Microbiol.* v. 22, p. 57-62, 1986.

- KEKKI, M., SIURALA, M., VARIS, K., SIPPONEN, P. Classification principles and genetics of chronic gastritis. *Scand. J. Gastroenterol.* v. 22 (Suppl. 22), p. 1-28, 1987.
- KRAKOWKA, S., MORGAN, D.R., KRAFT, W.G. Establishment of gastric *C. pylori* infection in the neonatal gnotobiotic piglets. *Infect. Immun.* v. 55, p. 2789-2796, 1987.
- KRIENITZ, W. Ueber das Auftreten von Spirochaeten verschiedener Form im Mageninhalt bei Carcinoma ventriculi. *Dtsch. Med. Wochenschr.* v. 32, p. 872, 1906.
- KREUNING, J., BOBMAN, F.T., KUIPER, G., WALL, A.M., LINDEMAN, L. Gastric and duodenal mucosa in "healthy" individuals. *J. Clin. Pathol.* v. 31, p. 69-77, 1978.
- LAMBERT, J.R., DUNN, K.L., EAVES, E.R., KORMAN, M.G., HANSKY, J., PINKARD, K.J. *Campylobacter pylori* in the human stomach. *Med. J. Aust.* v. 143, p. 174, 1985.
- LAMBERT, J.R., MÉGRAUD, F., GERBAUD, G., COURVALIN, P. Susceptibility of *C. pyloridis* to 20 antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* v. 30, p. 510-511, 1986.
- LAMBERT, J.R., BORROMEO, M., PINKARD, K.J., TURNER, H. Colonization of gnotobiotic piglet with *C. pyloridis* - an animal model? *J. Infect. Dis.* v. 155, p. 1344, 1987 (Abstract).
- LANGENBERG, M.L., TYTGAT, G.N.J., SCHIPPER, M.E.I., RIETRA, P.J.G.M., ZANEN, H.C. *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet.* v. 1, p. 1348, 1984.
- LEE, A., HAZZELL, S.L. *C. pylori* in health and disease: an ecological perspective. *Microb. Ecol. Health Dis.* v. 1, p. 1-16, 1988.
- LEVI, S., BEARDSHALL, K., PLAYFORD, R., GHOSH, P., HADDAD, G., CALAM, J. *C. pylori* and duodenal ulcers: the gastrin link. *Lancet.* v. 1, p. 1167-1168, 1989.
- MADAN, E., KEMP, J., WESTBLOM, U., SUBIK, M., SEXTON, S., COOK, J. Evaluation of staining methods for identifying *C. pylori*. *Am. J. Clin. Pathol.* v. 90, p. 450-453, 1988.
- MAC CKAY, I.R., HISLOP, I.G. Chronic gastritis and gastric ulcer. *Gut.* v. 7, p. 228-233, 1966.
- MALFERTHEINER, P., BODE, G., STANESCU, A., DITSCHUNEIT, H. Gastric metaplasia in the duodenum - a persistent condition following ulcer healing. *Gastrointestinal disease and C. pylori*. Charlottesville, Virginia. p. 21, 1989.

(Abstract).

- MARSHALL, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. v. 4, p. 1273-1275, 1983.
- MARSHALL, B.J., McGECHI, D.B., FRANCIS, G.J., UTLEY, P.J. Pyloric *Campylobacter* serology. *Lancet*. v. 2, p. 281, 1984.
- MARSHALL, B.J., McGECHIE, D.B., ROGERS, P.A., GLANEY, R.J. Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. *Med. J. Aust.* v. 142, p. 439-444, 1985a.
- MARSHALL, B.J., ARMSTRONG, J.A., Mc GECHIE, D.B., GLANCY, R.J. Attempt to fulfill KOCH'S postulates pr. pyloric *Campylobacter*. *Med. J. Austr.* v. 142, p. 436-439, 1985b.
- MARSHALL, B.J., GOODWIN, C.S. Revised nomenclature of *Campylobacter pyloridis*. *Intrnat. J. Syst. Bacteriol.* v. 37, p. 68, 1987a.
- MARSHALL, B.J., BARRET, L., PRAKASH, M.C., CALLUN, R.W. Survival of *C. pyloridis* at acid pH. *Gastroenterology*. p. 1517, 1987b. (Abstract)
- MARSHALL, B.J., GOODWIN, C.S., WARREN, J.R., MURRAY, R., BLINCOW, E.D., BLACKBOURN, S.J., PHILLIPS, M., WATERS, T., SANDERSON, C.R. Prospective double - blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *C. pylori*. *Lancet*. v. 2, p. 1437-1442a, 1988.
- MARSHALL, B.J., GUERRANT, R.L., PLANKEY, M.W., DYE, K.R., BARRET, L., FRIERSON, H.F., HOFFMAN, S.R., McCALLUM, R.W. Comparison of <sup>14</sup>C-urea breath test, microbiology and histology for the diagnosis of *C. pylori*. *Gastroenterology*. v. 94, A284, 1988b. (Abstract)
- Mc COLL, K.E.L., FULLARTON, G.M., EL NUJUMI, A.M. MacDONALD, A.M., BROWN, I.L., HILDITCH, T.E. Lowered gastrin and gastric acidity after eradication of *C. pylori* in duodenal ulcer. *Lancet*. v. 2, p. 499-500, 1989.
- Mc MULLEN, L., WALKER, M.M., BAIN, L.A., KARIN, G.N., BARON, J.H. Histological identification of *Campylobacter* using Gimenez technique in gastric antral mucosa. *J. Clin. Pathol.* v. 40, p. 464-465, 1986.
- Mc NULTY, C.A.M., WISE, R. Rapid diagnosis of *Campylobacter*-associated gastritis (letter). *Lancet*. v. 1, p. 1443, 1985a.
- Mc NULTY, C.A.M., DENT, J.C., WISE, R. Susceptibility of clinical isolates of *C. pyloridis* to 11 antimicrobial

- agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* v. 28, p. 837-838, 1985b.
- Mc NULTY, C.A.M. *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis. *J. Infect.* v. 13, p. 107-113, 1986a.
- Mc NULTY, C.A.M., GEARTY, J.C., CRUMP, C., DAVIS, M., DONOVAN, I.A., MELIKIAN, V., LISTER, D.M., WISE, R. C. *pyloridis* and associated gastritis: investigator blind, placebo controlled trial of bismuth salicylate and erythromycin ethylsuccinate. *Br. Med. J.* v. 293, p. 645-649, 1986b.
- Mc NULTY, C.A.M., DENT, J.C. Rapid identification of *C. pylori* by preformed enzymes. *J. Clin. Microbiol.* v. 25, p. 1683-1686, 1987.
- McNULTY, C.A.M., DENT, J.C., UFF, J.S., GEAR, M.W., WILLISON, S.P. Detection of *Campylobacter pylori* by the biopsy urease test: an assessment in 1445 patients. *Gut.* v.30, p. 1058-1062, 1989.
- MEGRAUD, F., BRASSENS-RABBE, M.P., DENIS, F., BELBOURI, A., HOA, D.Q. Seroepidemiology of *C. pylori* infection in various populations. *J. Clin. Microbiol.* v. 27, p. 1870-1873, 1989.
- MENDES, E.N., QUEIROZ, D.M.M., ROCHA, G.A., LIMA Jr., G.F., OLIVEIRA, C.A. Incidência de *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera péptica duodenal. *Gastroenterol. Endosc. Dig.* v. 9, p. 56, 1990.
- MISIEWICZ, J.J. World Congress of Gastroenterology. 9, 1990, Sidney. The Sydney System - a new classification of gastritis.
- MORGAN, D., KRAFT, W., BENDER, M., PEARSON, A. Nitrofurans in the treatment of gastritis associated with *C. pylori*. *Gastroenterology.* v. 95, p. 1178-1184, 1988.
- MONTGOMERY, E.A., MARTIN, D.F., PEURA, D.A. Rapid diagnosis of *C. pylori* by Gram's stain. *Am. J. Clin. Pathol.* v. 90, p. 606-609, 1988.
- MOROTOMI, M., HOSHIMA, S., GREEN, P., NEU, H.C. Oligonucleotide probe for detection and identification of *C. pylori*. *J. Clin. Microbiol.* v. 27, p. 2652-2655, 1989.
- MORRIS, A., NICHOLSON, G., LLOYD, G., HAINES, D., ROGERS, A., TAYLOR, D. Seroepidemiology of *C. pyloridis*. *N. Z. Med. J.* v. 99, p. 657-659, 1986.
- MORRIS, A., NICHOLSON, G. Ingestion of *C. pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am. J.*

- Gastroenterol. v. 82, p. 192-199, 1987.
- NEWELL, D.G., RATHBONE, B.J. The serodiagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Sero. Immuno.* v. 3, p. 172-177, 1989.
- O'CONNOR, H.J., AXON, A.T.R., DIXON, M.F. *Campylobacter*-like organisms unusual in type A (pernicious anaemia gastritis). *Lancet.* v. 2, p. 1091, 1984.
- O'CONNOR, H.J., WYATT, J.I., DIXON, M.F., AXON, A.T.R. *Campylobacter*-like organisms and reflux gastritis. *J. Clin. Pathol.* v. 39, p. 531-534, 1986.
- ODERDA, G., VAIRA, D., HOLTON, J., DOWSETT, J.F. Serum pepsinogen I and IgG antibody to *C. pylori* in non-specific abdominal pain in childhood. *Gut.* v. 30, p. 912-916, 1989.
- ODERDA, G., VAIRA, D., HOLTON, J., AINCEY, C., ALTARE, F., ANSALDI, N. Amoxicillin plus tinidazole for *C. pylori* gastritis in children: assessment by serum IgG antibody, pepsinogen I and gastrin levels. *Lancet.* v. , p. 690-692, 1989b.
- O'RIORDAN, T., TOBIN, A., BEATTIES, S., O'MORAIN. Adjuvant antibiotic treatment improves eradication of *C. pylori* in duodenal ulcer. *Gastroenterology.* v. 95, p. A378, 1989.
- ORMAND, J.E., TALLEY, N.J., SHORTER, R.G., CONLEY, C.R., WILSON, W.R., PHILLIPS, S.F. *Campylobacter pylori* prevalence in specific forms of gastritis: further evidence supporting a pathogenic role for *C. pylori* in chronic antral gastritis. *Gastroenterology.* v. 96, p. A378, 1989. (Abstract)
- OWEN, R.J., MARTIN, S.R., BORMAN, P. Rapid urea hydrolysis by gastric *Campylobacters*. *Lancet.* v. 1, p. 111, 1985.
- PALMER, E.D. Investigation of the mucosa gastric spirochetes of the human. *Gastroenterology.* v. 27, p. 218-220, 1954.
- PATRICK, W.J.A., DENHAM, D., FORREST, P.M. Mucous changes in the human duodenum: a light and electron microscopic study and correlation with disease and gastric acid secretion. *Gut.* v. 15, p. 767-776, 1974.
- PAUL, M.F., PAUL, H.E., BENDER, R.C. Studies on the distribution and excretion of certain nitrofurans. *Antibiotic. Chemother.* v. 10, p. 287-302, 1960.
- PEDEN, N.R., BOYD, E.S.S., SHEPHERD, D.M., WORMSLEY, K.G. Gastric mucosal histamine and histamine methyltransferase in patients with duodenal ulcer. *Gut.* v. 23, p. 58-62, 1982.

- PEREZ-PEREZ, G.T. & BLASER, M.J. Conservation and diversity of *C. pyloridis* major antigens. *Infect. Immun.* v. 55, p. 1256-1263, 1987.
- PEREZ-PEREZ, G.T., DWORKIN, B.M., CHODOS, J.E., BLASER, M.J. *C. pylori* antibodies in humans. *Ann. Intern. Med.* v. 109, p. 11-17, 1988.
- PETERSON, W., LEE, E., SKOGLUND, M. The role of *C. pyloridis* in epidemic gastritis with hypochlorhydria. *Gastroenterology.* v. 92, p. A1575, 1987. (Abstract)
- PETROSS, C.W., APPLEMAN, M.D., COHEN, H.E.N., VALENZUELA, J.E., CHANDRASOMA, P., LAINE, L.A. Prevalence of *Campylobacter pylori* and association with antral mucosal histology in subjects with and without upper gastrointestinal symptoms. *Dig. Dis. Sci.* v. 33, p. 649-653, 1988.
- PHILLIPS, A.D., HINE, K.R., HOLMES, G.K.T., WOODINES, D.F. Gastric spiral bacteria. *Lancet.* v. 2, p. 100-101, 1984.
- PIERAMICO, O., WILBERG, S., GLASBRENNER, B., MALFERTHEINER, P. Antroduodenal motility in *C. pylori* associated chronic type B gastritis. *Klin. Wochenschr.* v. 67 (Suppl 18), p. 54-57, 1989.
- PINKARD, K.J., HARRISON, B., CAPSTICK, J.A., MEDLEY, G., LAMBERT, J.R. Detection of *Campylobacter pyloridis* in gastric mucosa by phase contrast microscopy. *J. Clin. Pathol.* v. 39, p. 112-113, 1986.
- PRICE, A.B., LEVI, J., DOLBY, J.M., DUNSCOMBE, P.L., SMITH, A., CLARK, J., STEPHENSON, M.L. *Campylobacter pyloridis* in peptic ulcer disease: microbiology, pathology, and scanning electron microscopy. *Gut.* v. 26, p. 1183-1188, 1985.
- PRICE, A.B. Histological aspects of *C. pylori* colonization and infection of gastric and duodenal mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* v. 23, p. 21-24, 1988.
- QUEIROZ, D.M.M., MENDES, E.N., ROCHA, G.A. Indicator medium for the isolation of *Campylobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.* v. 25, p. 2378-2379, 1987.
- QUEIROZ, D.M.M., BARBOSA, A.J.A., MENDES, E.N., ROCHA, G.A., CISALPINO, E.O., LIMAJr., G.F., OLIVEIRA, C.A. Distribution of *C. pylori* and gastritis in the stomach of patients with and without duodenal ulcer. *Am. J. Gastroenterol.* v. 83, p. 1368-1371, 1988.

- QUEIROZ, D.M.M., MENDES, E.N., ROCHA, G.A. CUNHA-MELO, J.R., BARBOSA, A.J.A., LIMA Jr., G.F., OLIVEIRA, C.A. *Helicobacter pylori* and histamine content. *J. Clin. Pathol.* v. 44, p. 612-613, 1991.
- QUEIROZ, D.M.M., ROCHA, G.A., MENDES, E.N., CARVALHO, A.S.T., ARBOSA, A.J.A., OLIVEIRA, C.A., LIMA Jr., G.F. Differences in distribution and severity of *Helicobacter pylori* in children and adults with duodenal ulcer disease. *J. Ped. Gastroenterol. Nutr.* v. 12, p. 178-181, 1991.
- RAMIREZ-RAMOS, A., GILMAN, R.H., RECAVARREN, S. C. *pyloridis* in developing country. *Gastroenterology.* v. 92, p. 1588, 1987.
- RAMSEY, E.J., CAREY, K.V., PETERSON, W.L. Epidemic gastritis with hypochlorhydria. *Gastroenterology.* v. 76, p. 1449-1457, 1979.
- RATHBONE, B.J., WYATT, J.I., WORSLEY, B.W., SHIRES, S.E., TREJDOSIEWCZ, L.K., HEATLEY, R.V., LOSOWSKY, M.S. Systemic and local antibody responses to gastric *Campylobacter pyloridis* in non-ulcer dyspepsia. *Gut.* v. 27, p. 642-647, 1986.
- RAWS, E.A.J., LANGENBERG, W. HOUTHOFF, W.J., ZANEN, H.C., TYGAT, G.N.J. *C. pyloridis* associated chronic antral gastric a prospective study of its prevalence and the effects of antibacterial and anti-ulcer treatment. *Gastroenterology.* v. 94, p. 33-40, 1988.
- RHODES, J. Experimental production of gastric epithelium in the duodenum. *Gut.* v. 5, p. 454-458, 1964.
- ROCHA, G.A., QUEIROZ, D.M.M., MENDES, E.N., LAGE, A.P., BARBOSA, A.J.A. Simple carbolfuchsin staining for showing *C. pylori* and other spiral bacteria in the gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.* v. 42, p. 1004-1005, 1989.
- ROCHA, G.A., QUEIROZ, D.M.M., OLIVEIRA, A.M.R., MENDES, E.N., OLIVEIRA, C.A., LIMA Jr., G.F. An alternative serological test for *H. pylori* diagnosis. *Rev. Esp. Enf. Dig.* v. 78 (Suppl 1), p. A58, 1990. (Abstract)
- ROMANIUK, P.J., ZOLTOWASKA, B., TRUST, T.J., LANE, D.J., OLSEN, G.J., PACE, N.R., STAHL, D.A. *Campylobacter pylori* the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* ssp. *J. Bacteriol.* v. 169, p. 2137-2141, 1987.
- SAKITA, T. Endoscopy in diagnosis of early ulcer cancer. *Clin. Gastroenterol.* v. 2, p. 345-60, 1973.

- SALOMON, H. Ueber das spirillum des saugeriermagens und sein verhalten zu belegzellen. *Zentralb für Bacteriologie Parasitenkunde un Infektios Krankheiten.* v. 19, p. 433-441, 1896.
- SAMLOFF, I.M., SECRIST, D.M., PASSARO, E. A study of the relationship between serum group I pepsinogen levels and gastric acid secretion. *Gastroenterology.* v. 69, p. 1196-1200, 1975.
- SAMLOFF, I.M., TAGGART, R.T. Pepsinogens, pepsins and peptic ulcer. *Clin. Invest. Med.* v. 10, p. 215, 1987.
- SANDVIK, A.K., WALDUM, H.L., KLEVELAND, P.M. Gastrin produces an immediate and dose dependent histamine release preceding acid secretion in the totally isolated vascularly perfused rat stomach. *Scand. J. Gastroenterol.* v. 22, p. 803-808, 1987.
- SCHAGER, J., SPINK, R., MITRA, S. The antrum in patients with duodenal and gastric ulcer. *Gut.* v. 8, p. 497-508, 1967.
- SHELL, G.A., SCHUBERT, T.T. Usefulness of culture, histology and urease testing in the detection of *C. pylori*. *Am. J. Gastroenterol.* v. 84, p. 133-137, 1989.
- SCHUBERT, M.L., SHAMBUREK, R.D. Control of acid secretion. *Gastr. Clin. N. Am.* v. 19, p. 1-25, 1990.
- SIPPONEN, P., SEPPALA, K., AJRYNEN, M., KETTUNEN, P. Chronic gastritis and gastroduodenal ulcer: a case control study on risk of coexisting duodenal or gastric ulcer in patients with gastritis. *Gut.* v. 30, p. 922-929, 1989.
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. Statistical methods. Iowa, E.U.A., Ames, 1967.
- SOLL, A.H. Cellular mechanisms for regulation acid secretion. *Ann. Rev. Med.* v. 29, p. 495, 1978.
- SOLL, A.H., WOLLIN, A. Histamine and cyclic AMP in isolated canine parietal cells. *Am. J. Physiol.* v. 237, p. E444, E450, 1979.
- SOLL, A.H., LEWIN, K.J., BEAVEN, M.A. Isolation of histamine containing cells from rat gastric mucosa. Biochemical and morphological differences from the mast cells. *Gastroenterology.* v. 80, p. 717-727, 1981a.
- SOLL, A.H. Extracellular calcium and cholinergic stimulation of isolated canine parietal cells. *J. Clin. Invest.* v. 68, p. 270-278, 1981b.

- SOLL, A.H., AMIRIAN, D.A., THOMAS, L.P. Gastrin receptors on isolated canine parietal cells. *J. Clin. Invest.* v. 73, p. 1434-1447, 1984.
- STEER, H.W., COLIN-JONES, D.G. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut.* v. 16, p. 590-597, 1975.
- STOLTE, M., EIDT, S., OHNSMANN, A. Differences in *Helicobacter pylori*-associated gastritis in the antrum and body of the stomach. *Gastroenterology.* v. 28, p. 229-233, 1990.
- STRICKLAND, R.G. & MACKAY, I.R. A reappraisal of the nature and significance of chronic gastritis. *Dig. Dis.* v. 18, p. 426-440, 1973.
- TAYLOR, D.E., HARGREAVES, J.A., LAI-KING, W.G., SHERBANIUK, R.W., JEWELL, L.D. Isolation and characterization of *Campylobacter pyloridis* from gastric biopsies. *Am. J. Clin. Pathol.* v. 87, p. 49-54, 1987.
- TATSUTA, M., ISCHI, H., OKUDA, S. Location of peptic ulcers in relation to antral and fundal gastritis by chromoendoscopic follow-up examinations. *Dig. Dis. Sci.* v. 31, p. 7-11, 1986.
- TROWELL, J.E., YOONG, A.K.H., SAUL, K.J., GANT, P.W. Simple half Gram stain for showing presence of *C. pyloridis* in sections. *J. Clin. Pathol.* v. 40, p. 702, 1987.
- TYTGAT, G.N.J., HOFER, S., RAWES, E.A.J. Endoscopic and histology aspects of gastritis In: MALFERTHEINER, P. & DITSHUNEIT, H. (ed.) *Helicobacter pylori and peptic ulcer.* Berlin, Springer Verlag, p. 195-212, 1990.
- VAIRA, D., HOLTON, J., CAIRNS, S.R. Antibody titers to *C. pylori* after treatment for gastritis. *Br. Med. J.* v. 297, p. 297, 1988.
- VALLE, J., SEPPALA, K., SIPPONEN, P., KOSUNEN, T. Disappearance of gastritis after eradication of *H. pylori*. *Scand. J. Gastroenterol.* v. 26, p. 1057-1065, 1991.
- VISEK, W.J. Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. *J. Dairy Sci.* v. 51, p. 286-295, 1968.
- Von WULFFEN, H., HEESEMAN, J., BUTZOW, G.H., LONING T., LAUFS, R. Detection of *C. pyloridis* in patients with antrum gastritis and peptic ulcers by culture, complement fixation test and immunoblot. *J. Clin. Microbiol.* v. 24, p. 716-720, 1986.

- WALSH, J.H., RICHARDSON, C.T., FORDTRAN, S.S. pH dependence of acid secretion and gastrin release in normal and ulcer subjects. *J. Clin. Invest.* v. 55, p. 462-468, 1975.
- WALTERS, L.L., BUDIN, R.E., PAULL, G. Acridine-orange to identify *C. pyloridis* in formalin fixed paraffin embedded gastric biopsies. *Lancet.* v. 1, p. 42, 1986.
- WARREN, J.R., MARSHALL, B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet.* v. 1, p. 1273, 1983.
- WETHERALL, B.L., Mc DONALD, P.J., JOHNSON, A.M. Detection of *C. pylori* with non-radioactive probes DNA by hybridisation in comparison with <sup>32</sup>p-labelled probe. *J. Med. Microbiol.* v. 26, p. 257-263, 1988.
- WHITEHEAD, R., TRUELOVE, S.C. & GEAR, M.W.L. The histological diagnosis of chronic gastritis in fibre optic gastroscope biopsy specimens. *J. Clin. Pathol.* v. 25, p.1-11, 1972.
- WIERSINGA, W., TYTGAT, G.N.J. Clinical recovery owing to target cell failure in patient with Zollinger-Ellison syndrome. *Gastroenterology.* v. 73, p. 1413-1417, 1977.
- WYATT, J.I., RATHBONE, B.J., DIXON, M.F. *C. pylori* and acid induced gastric metaplasia in the pathogenesis of duodenitis. *J. Clin. Pathol.* v. 40, p. 841-848, 1987.
- WYATT, J.I., RATHBONE, B.J. Immune response of gastric mucosa of *C. pylori*. *Scand. J. Gastroenterol.* v. 23(suppl 142), p. 44-49, 1988.
- ZANTEN, S.J.D.V., TYTGAT, A.J.K.M., HOLLINGSWORT, N.J., JALALI, S., RASHID, F.A., BOWEN, B.M., GOLDIE, J., GOODACRE, R.L., RIDDELL, R.H., HUNT, R.H. <sup>14</sup>C ureia breath test for detection of *Helicobacter pylori*. *Am. J. Gastroenterol.* v. 85, p. 399-403, 1990.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

HISTÓRICO ESCOLAR

1. Admissão:

Nome: Leticia Maria Henrique Resende  
 Filiação: Pai - Rubens Doval Henriques  
                   Mãe - Stella Dalva Assis Henriques  
 Natural de : Belo Horizonte - MG  
 Nascida em 08 de julho de 19960  
 Admissão: 01 de março de 1988  
 Área de estudo: Microbiologia

2. Matrícula e Aproveitamento:

Ano	Disciplinas	Conceito	Créditos
1988	Bioquímica Celular	A	4
	Treinamento Didático em Microbiologia	A	1
	Citologia e Fisiologia de Microrganismos	A	5
	EPB	A	1
	Micologia Médica	A	2
	Bacteriologia de Anaeróbios	A	3
	Genética de Microrganismos	B	4
	Imunologia	A	2
	Métodos Bioquímicos Gerais	A	6
	Bacteriologia de Aeróbios	A	3
1990	Seminários em Microbiologia	A	2
Total:			32

3. Julgamento da Dissertação:

Título: "Microbiologia e histologia da mucosa gástrica de pacientes *Helicobacter pylori* positivos com úlcera péptica duodenal antes e após tratamento com antimicrobianos".

4. Banca Examinadora:

  
 \_\_\_\_\_

5. Conclusão: A estudante satisfaz as exigências do Curso de Mestrado em Microbiologia conforme os registros existentes neste Instituto, Belo Horizonte, 28 de abril de 1992.

  
 \_\_\_\_\_  
 ORIENTADORA

  
 \_\_\_\_\_  
 COORDENADOR DO CURSO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

FORMULÁRIO PARA DEFESA DE DISSERTAÇÃO


Estudante: Leticia Maria Henriques Resende

Curso de Pós-Graduação em Microbiologia - NÍVEL DE MESTRADO


Defesa de Dissertação: 28 de abril de 1992

Título: "Microbiologia e histologia da mucosa gástrica de pacientes Helicobacter pylori positivos com úlcera péptica duodenal antes e após tratamento com antimicrobianos".


---

  
PROF. ALFREDO JOSÉ AFONSO BARBOSA  
EXAMINADOR

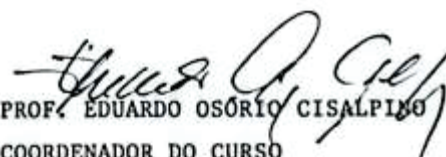
Aprovada: SIM

  
PROF. EDUARDO OSÓRIO CISALPINO  
EXAMINADOR

Aprovada: Sim

  
PROFA. DULCIENE MARIA MAGALHÃES QUEIROZ  
ORIENTADORA

Aprovada: Sim

  
PROF. EDUARDO OSÓRIO CISALPINO  
COORDENADOR DO CURSO

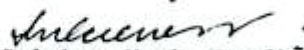
APROVADA EM 28 DE ABRIL DE 1992



Prof. Alfredo José Afonso Barbosa



Prof. Eduardo Osório Cisalpino



Profa. Dulciene Maria Magalhães Queiroz